



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI
ÇOCUK NEFROLOJİSİ BİLİM DALI**

**ADRIYAMİSİN İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL
NEFROTİK SENDROM MODELİNDE TALİDOMİDİN
NEFROTİK SENDROMUN LABORATUVAR BULGULARI
ÜZERİNE ETKİSİ**

Yrd. Doç. Dr. Mustafa SORAN

YANDAL UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Ali ANARAT

ADANA-2010



TC
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI
ÇOCUK NEFROLOJİSİ BİLİM DALI

**ADRIYAMİSİN İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL
NEFROTİK SENDROM MODELİNDE TALİDOMİDİN
NEFROTİK SENDROMUN LABORATUVAR BULGULARI
ÜZERİNE ETKİSİ**

Yrd. Doç. Dr. Mustafa SORAN

YANDAL UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Ali ANARAT

**Çukurova Üniversitesi Proje Araştırma ve Destekleme Fonu
TF2005LPT22**

ADANA-2010

TEŞEKKÜR

Deneysel çalışma Çukurova Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezinde yapılmıştır. Serum ve idrar örnekleri Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarında, böbrek dokuları Patoloji Anabilim Dalında çalışılmıştır. Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Proje Araştırma ve Destekleme Fonu (TF2005LPT22) tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II-III
TABLO LİSTESİ	IV
ŞEKİL LİSTESİ	V
KISALTMALAR LİSTESİ	VI-VII
ÖZET VE ANAHTAR SÖZCÜKLER	VIII
ABSTRACT-KEYWORDS	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Nefrotik Sendrom	3
2.1.1. Sınıflandırma	3
2.1.1.1. Klinik Sınıflandırma	3
2.1.1.2. Histopatolojik Sınıflandırma	4
2.1.1.2.1. Minimal Lezyon Hastalığı	4
2.1.1.2.2. Fokal Segmental Glomerüloskleroz	5
2.1.1.2.3. Mezengial Proliferatif Glomerülonefrit	5
2.1.1.2.4. Membranoproliferatif Glomerülonefrit	5
2.1.1.2.5. Membranöz Glomerülonefrit	6
2.1.1.3. Tedaviye Cevaba Göre Sınıflandırma	6
2.1.2. Nefrotik Sendromun Patofizyolojisi	7
2.1.3. Klinik Bulgular	9
2.1.4. Laboratuvar Bulgular	10
2.1.5. Nefrotik Sendromun Tedavisi	10
2.1.5.1. Destek Tedavisi	11
2.1.5.2. Spesifik Tedavi	11
2.2. Deneyisel Nefrotik Sendrom	14
2.3. Talidomid	16
2.3.1. Talidomidin Yapı ve Biyoaktivitesi	17
2.3.2. Talidomidin Etki Mekanizması	17
2.3.3. Talidomidin Kullanıldığı Hastalıklar	20
2.3.4. Talidomidin Yan etkileri	21
2.4. Tümör Nekrozis Faktör- α	21
2.5. İnterlökin-6	23
2.6. Apoptosis ve Böbrek Hastalığı İlişkisi	24
2.6.1. Apoptosis	24
2.6.2. Böbrek Hastalıklarında Apoptosis	26
3. GEREÇ ve YÖNTEM	29
3.1. Deneyisel Çalışma	29
3.2. Deney Hayvanları	29
3.3. Yöntem	30
3.4. İstatistiksel Analiz	33
4. BULGULAR	34

5. TARTIŞMA	58
5.1 Sıçanların Seçimi ve Bakımı	58
5.2 Deneysel Nefrotik Sendrom Modeli	59
5.3. Talidomidin Etkisi	60
5.3.1. Talidomidin İnterlökin-6'ya Etkisi	60
5.3.2. Talidomidin Tümör Nekrozis Faktör- α 'ya Etkisi	61
5.3.3. Talidomidin Apoptozise Etkisi	63
5.3.4. Talidomidin Proteinüriye Etkisi	65
5.4. Talidomidin Yan Etkileri	65
6. SONUÇLAR	67
KAYNAKLAR	76
ÖZGEÇMİŞ	93

TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 1 : Nefrotik sendromun klinik sınıflandırması	4
Tablo 2 : Glomerüler lezyonların histopatolojik sınıflandırması	6
Tablo 3 : Normal ve nefrotik proteinüri tanımı	9
Tablo 4 : Çalışmaya alınan sıçanların çalışma gruplarına göre özellikleri	30
Tablo 5 : Gruplar arası ağırlık dağılımı	36
Tablo 6 : Gruplar arası kan üre azotu değerlerinin dağılımı ve median değerleri	37
Tablo 7 : Gruplar arası serum kreatinin değerlerinin dağılımı ve median değerleri	38
Tablo 8 :Gruplar arasında serum total protein değerlerinin dağılımı ve median değerleri	39
Tablo 9 : Gruplar arası serum albümin değerlerinin dağılımı ve median değerleri	41
Tablo 10 :Gruplar arası serum total kolesterol değerlerinin dağılımı ve median değerleri	42
Tablo 11 : Gruplar arası serum trigliserit değerlerinin dağılımı ve median değerleri	44
Tablo 12 : Gruplar arası serum aspartat aminotransferaz değerlerinin dağılımı ve median değerleri	45
Tablo 13 : Gruplar arası serum alanin aminotransferaz değerlerinin dağılımı ve median değerleri	47
Tablo 14 : Gruplar arası idrar protein, kreatinin ve idrar volümü değerlerinin dağılımı ve median değerleri	48
Tablo 15 : Gruplar arası idrar protein değerlerinin dağılımı ve median değerleri (mg/gün)	49
Tablo 16 : Gruplar arası idrar protein/kreatinin değerlerinin dağılımı ve median değerleri	50
Tablo 17 :Gruplar arası serum tümör nekrozis faktör - α düzeylerinin dağılımı ve median değerleri	52
Tablo 18 : Gruplar arası serum interlökin-6 düzeylerinin dağılımı ve median değerleri	53
Tablo 19 : Gruplar arası idrar tümör nekrozis faktör- α düzeyleri dağılımı ve median değerleri	55
Tablo 20 : Gruplar arası idrar interlökin-6 düzeyleri dağılımı ve median değerleri	56
Tablo 21 : Gruplar arası idrar apoptotik hücre sayısı dağılımı ve median değerleri	58

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1 : Talidomidin kimyasal yapısı	16
Şekil 2 : İmmun yanıt ve anjiogeneizde talidomidin etki mekanizmaları	18
Şekil 3 : Talidomidin antikanser tedavide kullanımı	20
Şekil 4 : Apoptotik hücrenin görünümü	34
Şekil 5 : Grupların ilk ve son ağırlıklarının dağılımı	36
Şekil 6 : Gruplara göre serum kan üre azotu değerlerinin (mg/dl) dağılımı	37
Şekil 7 : Gruplara göre serum kreatinin değerlerinin (mg/dl) dağılımı	38
Şekil 8 : Gruplara göre serum total protein değerlerinin (gr/dl) dağılımı	40
Şekil 9 : Gruplara göre serum albümin değerlerinin (gr/dl) dağılımı	41
Şekil 10 : Gruplara göre serum total kolesterol değerlerinin (mg/dl) dağılımı	43
Şekil 11 : Gruplara göre serum trigliserit değerlerinin (mg/dl) dağılımı	44
Şekil 12 : Gruplara göre serum aspartat aminotransferaz değerlerinin (U/L) dağılımı	45
Şekil 13 : Gruplara göre serum alanin aminotransferaz değerlerinin (U/L) dağılımı	46
Şekil 14 : Gruplara göre idrar protein değerlerinin (mg/gün) dağılımı	49
Şekil 15 : Gruplara göre idrar protein/kreatinin oranlarının (mg/mg) dağılımı	51
Şekil 16 : Gruplara göre serum tümör nekrozis faktör- α düzeylerinin dağılımı	52
Şekil 17 : Gruplara göre serum interlökin-6 düzeylerinin dağılımı	54
Şekil 18 : Gruplara göre idrar tümör nekrozis faktör- α düzeyi dağılımı	55
Şekil 19 : Gruplara göre idrar interlökin-6 düzeyi dağılımı	57
Şekil 20 : Gruplara göre apoptotik hücre sayısı dağılımı	58

KISALTMALAR

ACE	Anjiotensin Konverting Enzim
AIF	Apoptoziste rol alan Flavoprotein
ALT	Alanin Amino Transferaz
ANA	Anti Nükleer Antikor
ANCA	Anti Nötrofil Sitoplasma Antikor
ANP	Atrial Natriüretik Peptit
APSGN	Akut Post Streptokoksik Glomerulo Nefrit
Anti DNA	Anti Deoksi Nükleik Asit Antikor
AST	Aspartat Amino Transferaz
BUN	Kan Üre Azotu
COX-2	Siklooksigenaz 2
CRP	C Reaktif Protein
ENAC	Epitelyal Sodyum Kanalları
FGF	Fibroblast Growth Faktör
FGS	Fokal Glomerulo Skleroz
FGGS	Fokal Global Glomerulo Skleroz
FSGS	Fokal Segmental Glomerulo Skleroz
GFR	Glomerüler Filtrasyon Hızı
GM-CSF	Granülosit Makrofaj Koloni Stimülan Faktör
HIV	İnsan İmmün Yetmezlik Virusu
HSP	Henoch-Schönlain Purpura
IAP	Apoptozis İnhibitör Protein
ICAM-1	İntersellüler Adezyon Molekül-1
IFN-γ	İnterferon gama
IgA	İmmün Globulin A
IgG	İmmün Globulin G
IgM	İmmün Globulin M
IL-1β	İnterlökin 1 beta
IL-2	İnterferon 2
IL-4	İnterferon 4
IL-6	İnterlökin 6
IL-10	İnterlökin 10
IL-12	İnterlökin 12
IL-13	İnterlökin 13
IV	İntra Venöz
MGN	Membranöz Glomerulo Nefrit
mRNA	m Ribonükleik Asit
MesPGN	Mesengio Proliferatif Glomerulo Nefrit
MLH	Minimal Lezyon Hastalığı
MMF	Mikofenolat Mofetil
MPGN	Membrano Proliferatif Glomerulo Nefrit
NFκB	Nükler Faktör Kappa B
NK	Naturel Killer
NS	Nefrotik Sendrom

NSAID	Non Steroid Anti İnflamatuar İlaç
PAN	Puromisin Amino Nükleozidi
PBS	Fosfat Tampon Solüsyon
PBMC	Periferik Kan Mononükleer Hücre
SLE	Sistemik Lupus Eritematozus
SSNS	Steroid Duyarlı Nefrotik Sendrom
SRNS	Steroid Dirençli Nefrotik Sendrom
TNF-α	Tümör Nekrozis Faktör- α
VCAM-1	Damar Hücresi Adezyon Molekülü-1
VEGF	Vasküler Epitelyal Growth Faktör

ÖZET

ADRIYAMİSİN İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL NEFROTİK SENDROM MODELİNDE TALİDOMİDİN NEFROTİK SENDROMUN LABORATUVAR BULGULARI ÜZERİNE ETKİSİ

Amaç: Çocukluk çağı idiyopatik nefrotik sendromun patogeneziindeki son hipotez T hücre ile ilişkili immun cevabın etkilendiğini bildirmektedir. Adriyaminle indüklenen nefrotik sendrom, idiyopatik nefrotik sendrom oluşumunda sık kullanılan bir modeldir. Talidomid inflamatuvar tümör nekrozis faktör- α , interlökin-6'yı, angiogenezi ve apoptozisi baskılayan bir immunomodülatör ajandır. Bu çalışmanın amacı, adriyamin ile oluşturulan nefrotik sendrom modelinde, talidomidin proteinüri, tümör nekrozis faktör- α ve interlökin-6 üzerindeki etkisini araştırmaktır.

Yöntem: Atmış sıçan dört gruba ayrıldı. Deneysel nefrotik sendrom intraperitoneal adriyamin (10 mg/kg) enjekte edilerek oluşturuldu. Grup 1 sağlıklı kontrol grubu, grup 2 nefrotik sendrom oluşturulan fakat herhangi bir tedavi verilmeyen nefrotik kontrol grubu (15 sıçan), Grup 3 ve 4 talidomid tedavisi verilen grup. Grup 3'te talidomid tedavisi ilk gün, Grup 4'te talidomid tedavisi 11. günden başlayıp, 20. güne kadar verildi. Sıçanlar 21. gün sonunda biyokimyasal değerlendirme için intrakardiyak yolla kan alınıp, kanamaya bırakılarak feda edilmiştir. Talidomidin böbrek fonksiyonları, biyokimyasal parametrelere etkisi, serum ve idrarda tümör nekrozis faktör- α ve interlökin-6 düzeyleri değerlendirildi.

Bulgular: İdrar protein atılımı ve idrar protein/kreatinin oranı istatistiksel olarak anlamlı derecede Grup 2'de en yüksek, Grup 1'de en düşük, Grup 3'te Grup 2'den anlamlı düşüktü. Grup 1 ve 3 arasında anlamlı fark yoktu. Serum total protein ve albumin düzeyleri Grup 3'te Grup 2 ve 4'ten anlamlı derecede daha yüksek ($p<0.001$), Grup 3 ile Grup 1 arasında anlamlı fark yoktu. Total kolesterol ve trigliserid düzeyleri Grup 3'te Grup 2'den anlamlı derecede daha düşük, Grup 3 ve Grup 4 arasında ise anlamlı fark bulunmadı. Ortalama serum interlökin-6 düzeyi Grup 1'de tüm gruplardan daha düşük bulundu ($p<0,001$). Gruplar arasında idrar interlökin-6 düzeyleri açısından farklılık bulunmadı. İdrar tümör nekrozis faktör- α düzeyi Grup 1'de, Grup 3'ten istatistiksel olarak anlamlı daha yüksekti ($p<0,001$). Serum tümör nekrozis faktör- α düzeyi Grup 1'de en düşük bulundu fakat gruplar arasında istatistiksel bir farklılık saptanmadı.

Sonuç: Sonuç olarak talidomid ile erken tedavi, adriyaminle oluşturulan nefrotik sendromu baskılayabilen, etkili antiproteinürik ve immunomodülatör bir ajandır.

Anahtar Kelimeler; nefrotik sendrom, talidomid, TNF- α , interlökin-6 ve apoptozis

ABSTRACT

THE ROLE OF THALIDOMIDE ON LABORATORY FINDING OF NEPHROTIC SYNDROME IN THE MODEL OF ADRIAMYCINE INDUCED NEPHROSIS

Aim: The current hypothesis for the pathogenesis of childhood idiopathic nephrotic syndrome favors the involvement of a T cell-mediated immune response. Adriamycin induced nephritic syndrome is a widely used model for idiopathic nephrotic syndrome. Thalidomide is an immunomodulatory agent that down regulates the inflammatory tumor necrosis factor- α , interleukin-6, and as well as angiogenesis, and apoptosis. The aim of this study was to investigate the role of thalidomide on proteinuria, tumor necrosis factor- α and interleukin-6 in the model of adriamycin-induced nephrosis.

Method: Sixty rats divided equally into four groups: Group 1 was healthy control group except the first group, experimental nephrotic syndrome was induced by intraperitoneal adriamycin (10 mg/kg). Group 2 consist of 15 rats which were not performed any treatment and accepted as nephritic control group. Both Group 3 and 4 received thalidomide, but thalidomide started at the first day in Group 3 and at the 11th day in Group 4 for 20 days. On 21st day, rats were sacrificed after obtaining material for biochemical analysis. Effects of thalidomide on renal function, biochemical parameters, and expression of serum and urine tumor necrosis factor- α and interleukin-6 were determined.

Result: Urinary protein excretion and urinary protein/creatinine ratio were significantly highest in Group 2, and lowest in Group 1, and found significantly lower in Group 3 than in Group 2. No difference was found between Group 1 and 3. The levels of serum total protein and albumin levels were significantly higher in Group 3 than in Groups 2 and 4 ($p < 0,001$). No statistically significant difference was found in Group 3 when compared with Group 1. Total cholesterol and triglyceride levels were significantly lower in Group 3 than in Group 2. But no difference was found in cholesterol and triglyceride levels between Group 3 and 4. Mean serum interleukin-6 level was significantly lower in the Group 1 than all of the groups ($p < 0,001$). Urinary interleukin-6 level was not statistically different between the groups. Urinary tumor necrosis factor- α level was found significantly higher in the Group 1 than in the Group 3 ($p < 0,001$). Serum tumor necrosis factor- α level was lowest in the Group 1 but no statistically significant difference was found between groups.

Conclusion: Thalidomide is an effective anti-proteinuric and immunomodulatory agent that capable of suppressing adriamycin-induced nephrosis with early treatment.

KeyWords; nephrotic syndrome, thalidomide, TNF- α , interleukin-6 and apoptosis

1. GİRİŞ

Nefrotik sendrom (NS) proteinüri ve bunun sonucu gelişen hipoalbuminemi, hiperlipidemi ve ödemle karakterize bir hastalıktır¹⁻³. Nefrotik sendromun tedavisi steroid ve sitostatik ilaçlarla yapılmaktadır⁴. Fakat minimal lezyon hastalığı (MLH) dışında diğer glomerüler patolojilere bağlı NS'lu hastaların 2/3'ünün steroid tedavisi ile remisyona girmedikleri ve klinik ve laboratuvar bulgularının devam ettiği görülmektedir^{1,2,4}. Steroide dirençli olgularda azotiopirin, levamizol, oral günlük veya damardan aylık pulse şeklinde verilen siklofosfamid, siklosporin A, takrolimus ve mikofenolat mofetil (MMF) tedavi seçenekleri olarak sunulmaktadır⁵⁻¹⁴. Bu tedavi seçeneklerine rağmen proteinürisi devam eden hastaların yönetimi sorun olmaya devam etmektedir¹⁵.

Nefrotik sendrom tedavisindeki tüm bu hızlı ilerlemeye rağmen halen tedavilere cevap vermeyen, proteinürisi devam eden ve ileride kronik böbrek yetmezliğine aday olacak hasta sayısı küçümsenemeyecek kadar çoktur^{2, 4, 10}. Progresif böbrek hastalıklarında böbreklerde zamanla oluşacak hasarlanma, orijinal hastalık tarafından etkilenen nefronların sağlam kalan ünitelerinin hemodinamik adaptasyonuna bağlıdır¹⁶. Daha fazla çalışmak zorunda kalan nefronlarda glomerüloskleroz ve tübüler atrofi gelişir. Sonuçta renal hasarlanma intertisyel fibrozis, renal kitlede azalma ve nihayetinde ilerleyici böbrek fonksiyon kaybı ile sonuçlanır¹⁷⁻²⁰. Bu nedenle dirençli nefrotik sendromlu hastalarda glomerüloskleroza, buna bağlı olarak da böbrek yetmezliğine gidişi hızlandıran proteinüriyi azaltacak yeni tedavi yaklaşımlarının arayışı devam etmektedir.

Talidomid, tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) ve interlekin-6 (IL-6) gibi antiinflamatuvar mediatörlerin üretimini, anjiogenezi, hücresel adezyon moleküllerinin salınımını baskılayan ve hem proapoptotik hemde antiapoptotik özellikleri olan bir immunmodülatör ajandır²¹⁻²³. Talidomidin immun modülatör etkisi sitokin ve antianjiogenetik faktörlerin sentezini azaltmasından kaynaklanmaktadır. Talidomid T hücre proliferasyonunu baskılar, CD4/CD8 oranını azaltır ve T1'den T2 yanıtına kayma yapar. Ayrıca adezyon molekülleri ve diğer lökosit reseptörlerinin etkilerini azaltır, kemotaksisi baskılar. En istenen etkisi TNF mRNA yıkımını ayarlamak veya α 1-asid glikoproteinden anti-TNF aktivitesini destekleyerek TNF'ü baskılamasıdır. Yine talidomid NF κ B'yi engelleyerek apoptozis, IL-6 ve IL-12 üretimini baskılar. Bu etkilerinden dolayı talidomid Behçet hastalığı, Crohn hastalığı, sorkoidoz, SLE'nin cilt bulguları, multipl myeloma,

amiloidoz ve solid tümörler gibi immun sistemle ilişkili hastalıklarda steroid tedavisinde kullanılan dozun azaltılması için kullanılmaktadır²⁴⁻²⁶. Fakat yan etkileri nedeniyle sadece standart tedavi rejimlerine cevap vermeyen hastalarda tercih edilmektedir²⁷.

Proinflamatuvar bir sitokin olan TNF- α 'nın böbrek hastalıklarının patogeneğinde önemli bir rol oynadığı ileri sürülmüş ve bu konuda bu görüşü destekleyen veya desteklemeyen çalışmalar yapılmıştır. İç ve dış uyaranlarla başlatılabilen ve fizyolojik bir süreç olarak kabul edilen programlı hücre ölümü (apoptozis), organizmanın hücre sayısını kontrol altında tutabilmek için çalışan bir homeostaz sistemi olup embriyolojik, neoplastik ve immunolojik olayların gelişmesinde çok önemli role sahiptir²⁸⁻³⁰. Renal hasarlanmada apoptozisin tam rolü hakkında halen cevabı bulunamayan sorular olmasına karşın çeşitli renal hastalıklarda apoptozisin meydana geldiği gösterilmiş, fakat renal hücre apoptozisinin düzenlenmesinin tedaviye katkısı henüz araştırılmaktadır³⁰⁻³⁵.

Bu çalışma standart tedaviye cevap vermeyen ve proteinürisi devam eden ileride kronik böbrek yetmezliğine aday çok sayıda hastanın olmasından dolayı tedaviye dirençli nefrotik sendrom vakalarında yeni alternatif tedavi seçeneklerini ortaya koyabilmek için yapıldı. Çalışmada adriamisinle oluşturulan deneysel NS modelinde, hem NS oluşumunda anahtar rol oynadığı düşünülen proinflamatuvar bir sitokin olan TNF- α ve antiinflamatuvar bir sitokin olan IL-6 gibi mediatörlerin serum ve idrar düzeylerine talidomidin etkisini araştırmak hemde antianjiogenez, hücresel adezyon moleküllerinde azalma ve hem proapoptotik hemde antiapoptotik özellikleri olan bir immunomodülatör ajan talidomidin, deneysel NS oluşturulmasına ve oluşturulan NS'un klinik ve laboratuvar bulguları üzerindeki etkilerini araştırmak için planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nefrotik Sendrom

Nefrotik sendrom glomerüler filtrasyon bariyerinde geçirgenliğin artması sonucu oluşan masif proteinüri ve bunun sonucu ortaya çıkan hipoproteinemi, ödem ve hiperlipidemi ile karakterize klinik bir tablodur^{1,2}. 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^{1,36,37}. Çocukluk çağı NS'ların 2/3'ü 5 yaşından önce başlayıp, %80-85'ini MLH oluşturur^{1,2,36}.

2.1.1. Sınıflandırma

Nefrotik sendrom klinik görünüm, histopatolojik lezyon ve steroid tedavisine verdiği cevaba göre sınıflandırılır².

2.1.1.1. Klinik Sınıflandırma

Nefrotik sendrom oluşumuna göre primer ve sekonder NS olarak iki ana grupta incelenir³⁸. Primer NS'da olay izole olarak böbrekte olup, en sık karşılaşılan tip MLH'dır ve steroide yanıtı iyidir. MLH dışı glomerülonefritler de steroide MLH'dan daha düşük oranda yanıt vermektedir^{1,2,4}. Primer NS idyopatik NS [MLH, fokal segmental glomerülosklerozis (FSGS), mezengioproliferatif glomerülonefrit (MezPGN)], MGN, immunkompleks glomerülonefritler [akut poststreptokoksik glomerülonefrit (APSGN), membranoproliferatif glomerülonefrit (MPGN)] ve konjenital NS'dan oluşur^{1,2}. Sekonder NS ise NS sistemik bir hastalık ya da bir olaya ikincil olarak gelişir (Tablo 1)^{1,2,4,38}. Deneysel çalışmalarda kullanma amacıyla geliştirilen deneysel NS modelleride mevcuttur

Tablo 1. Nefrotik sendromun klinik sınıflandırması³⁸

I- Primer NS

1. İdiopatik NS
 - Minimal lezyon hastalığı (MLH)
 - Mezengial proliferatif glomerülonefrit (MezPGN)
 - Fokal glomerülosklerozis (FGS)
2. İmmünkompleks glomerülonefrit
 - Membranöz glomerülonefrit (MGN)
 - Membranoproliferatif glomerülonefrit (MPGN)
 - Akut poststreptokoksik glomerülonefrit (APSGN)
3. Konjenital NS

II-Sekonder NS

1. Sistemik hastalıklar: Henoch-Schönlein purpurası, sistemik lupus eritematozis (SLE), vaskülitler, Goodpasture sendromu, dermatomiyozit, amiloidoz, sarkoidoz, romatoid artrit.
2. Sistemik infeksiyonlar: Hepatit B, konjenital ve sekonder sifiliz, şant infeksiyonu, bakteriyel endokardit, sıtma, varisella, HIV, poststeroptokoksik glomerulonefrit, lepra, şistozomiazis, İnfeksiyöz mononükleoz
3. Heredofamilyal hastalıklar: Orak hücreli anemi, diabetes mellitus, Alport sendromu, nail patella sendromu.
4. İlaçlar: Altın tuzları, nonsteroid antienflamatuvar ilaçlar (NSAID), tridion, kaptopril, eroin, d-penisilamin, civa bileşikleri.
5. Neoplaziler: Hodgkin hastalığı, lenfomalar, lösemiler, karsinomalar, melanomlar, Wilms tümörü
6. Diğerleri: Arı sokması, aşılama, tiroidit, miksödem, malign obesite

2.1.1.2. Histopatolojik Sınıflandırma

Işık mikroskopunda görülen glomerüler değişikliklere göre yapılmaktadır⁴³. Bu ayırım daha sonra immünoflöresan ve elektron mikroskopik incelemelerle desteklenmiştir. NS'un histopatolojik sınıflandırması Tablo 2'de verilmiştir.

2.1.1.2.1 Minimal Lezyon Hastalığı

Minimal lezyon hastalığında glomerüllerde histolojik değişiklik olmadığı kabul edilir. Bazı vakalarda minimal mezengial kalınlaşma, fokal mezengial hücre artışı ve bazal membranın kalınlaşması görülebilir. İmmünflöresan mikroskopta genellikle immundepozit birikimi yoktur. Ancak nadir de olsa IgM ve komplemandan oluşan mezengial depolanma bulunabilir. Elektron mikroskopta podositlerde hipertrofi ile foot proçeslerde genişleme gözlenir^{1,2,42,43}.

2.1.1.2.2 Fokal Segmental Glomerüloskleroz

Fokal glomerülosklerozda (FGS) bazı glomerüllerde kapiller kollaps ve obliterasyon olan segmental alanlar (FSGS) ile birlikte matrikste artma ve hiyalen depolanma görülür. Yaygın tutulum olabilir [fokal global glomerüloskleroz (FGGS)]. Lezyonların çoğunda podosit hiperplazisi sklerotik alanlarla birlikte. Etkilenen glomerüller daha çok jukstamedüller bölgededir, ancak buraya sınırlı değildir. FGGS, FSGS'in ilerlemiş şekli olabileceği gibi, NS'la ilgisiz bağımsız bir antitede olabilir. Kural olarak FSGS tübüler atrofi ile beraber gider ve steroide yanıtı MLH'dan kötü, FGGS'den iyidir, progresif seyirlidir^{2,4,42-44}.

2.1.1.2.3 Mezengial Proliferatif Glomerülonefrit

Mezengioproliferatif glomerulonefritte mezengial hücrelerin sayısında orta ve belirgin derecede artış (mezengial proliferasyon), lökosit infiltrasyonu (eksudasyon), kapiller lupların obliterasyonu ile birlikte artmış mezengial matriks (skleroz) ve bowman kapsülünün iç yüzeyinde fibroepiteliyal proliferasyon (kresent ve adezyon) bir arada bulunur. İmmünoflöresan mikroskopi genellikle negatiftir. Fakat postinfeksiyöz glomerülonefrit, Berger hastalığı (IgA nefropatisi) ve sistemik hastalığa sekonder NS bulguları bulunabilir^{2,42,43}.

2.1.1.2.4 Membranoproliferatif Glomerülonefrit

Membranoproliferatif glomerülonefrit (MPGN) başlığı altında üç tane histolojik alt grup tanımlanmıştır. Tip-I MPGN'de temel lezyon subendotelial IgG ve kompleman toplanmasıdır. Tip-II MPGN'de intramembranöz dens depolanma ile bazal membran kalınlaşması vardır. Tip-III MPGN morfolojik olarak transmembranöz depolanma ile karakterizedir. Bütün tiplerde mezengial proliferasyon, kresent oluşumu, hiperlobülasyon ve epimembranöz depolanma görülür^{42,43,45}.

2.1.1.2.5 Membranöz Glomerülonefrit

Membranöz glomerülonefritte subendotelial depozitler genellikle düzenli, bazen düzensiz şekilde bazal membranda dağılım gösterir. Işık mikroskopisinde lamina densaya girinti yapan bazal membran çıkıntıları şeklinde görülür. Bu görüntü dantel tarzı görünüm olarak tarif edilir. Depolanmalar genellikle sadece hafif mezengial proliferasyonla birlikte^{46,47}.

Tablo 2. Glomerüler lezyonların histopatolojik sınıflandırması⁴²

-
1. Minimal Lezyon Hastalığı (MLH)
 2. Fokal Glomerülosklerozis (FGS)
 - Fokal Segmental Glomerülosklerozis (FSGS)
 - Fokal Global Glomerülosklerozis (FGGS)
 3. Mezengial Proliferasyon (MezPGN)
 - Pür Diffüz Mezengial Proliferasyon
 - Sklerozan Glomerülonefritis
 4. Membranoproliferatif Glomerülonefrit (MPGN)
 - Tip-I MPGN; Subendotelial depolanma
 - Tip-II MPGN; İntramembranöz dens depozitler
 - Tip-III MPGN; Transmembranöz depolanma
 5. Membranöz Glomerülonefrit (MGN)
 6. Kronik Glomerülonefrit
-

2.1.1.3. Tedaviye Cevaba Göre Sınıflandırma

Nefrotik sendrom steroid tedavisine verdiği cevaba göre steroidde cevaplı (SSNS) ve steroidde dirençli (SRNS) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır¹. Steroidde direnç, düzenli olarak 6–8 hafta boyunca alınan 60 mg/m²/gün bölünmüş dozlarda prednisolon tedavisine rağmen, masif proteinürinin (≥ 40 mg/m²/st) devam etmesidir^{1,4,14}. En sık görülen idiopatik NS nedeni olan MLH steroidde % 85–90 oranında cevap verirken, bu oran FSGS’de % 30, MGN de ise % 5’e kadar düşmektedir^{1,2,4,14}. Başlangıçta steroidde cevap verirken izlemde cevapsız olan vakalar ise sekonder dirençli olgular olarak tanımlanmaktadır^{1,4,5,38}.

2.1.2. Nefrotik Sendromun Patofizyolojisi

Filtrasyon bariyerinde geçirgenlik artışı ile ortaya çıkan proteinüri NS gelişmesinde primer sorumlu patofizyolojik mekanizmadır². İdrarla en fazla kaybedilen protein albümindir, bunun yanında immunglobulinler gibi diğer plazma proteinleri, çeşitli koagulasyon faktörleri, vitamin-D bağlayan protein ve metaloproteinler de idrarla kaybedilmektedir^{1,2}. Ödem, hipoalbüminemi ve hiperkolesterolemi albüminürinin bir sonucudur³.

Proteinüri: Çocuklarda 40mg/m²/st'in üstünde yetişkinlerde ise 3.5 gr/gün'den fazla protein atımı nefrotik proteinüri kabul edilir^{1,2,43}. Normalde, glomerüler filtrasyon bariyerinin seçici geçirgenliği ve proksimal tubulusdan proteinlerin reabsiyonu nedeni ile, büyük molekül ağırlıklı proteinler idrarda görülmez. Glomerüler hastalıklarda, proteinlere karşı glomerüler geçirgenliğin artması, proteinüri ile sonuçlanır. Günümüzde geniş araştırmalara karşın, proteinürinin patogenezi halen tam açıklanamamıştır. Filtrasyon işlevinde GBM, hem mol büyüklüğüne (size), hem de elektriksel yüke (charge) dayalı bir bariyer olarak işlev görmesinin yanı sıra glomerüler kapiller ağın en dış katı olan epitel hücreler mikromoleküllerin filtrasyonlarında size selektif bir bariyer olarak görev yapar. Visseral epitel hücreleri (podositler), glomerüler filtrasyon bariyerinin en dış parçasını oluşturur. Podositler, glomerüler kapilleri tarak dişleri şeklinde sarar. Her bir tarak dişini, birbirine komşu epitel hücresi ayakları çıkıntıları oluşturmaktadır. Ayaklı çıkıntılar, GBM ile ilişkilidir. GBM üzerinde birbirine komşu ayaklı çıkıntılar arasında slit diyafram (SD) yer alır, SD filtrasyon delikleri içeren bir köprüdür. Slit diyafram, GBM ile yakın ilişkili çok ince bir membrandır. Ayaklı çıkıntıların apikal ve lateral yüzeyini, ağırlıklı olarak podokaliksinin yer aldığı glikoproteinler sarmaktadır. Bu yapılar, ayaklı çıkıntıların güçlü negatif elektrik yükü taşımasına neden olur. Negatif elektrik yükü; birbirine komşu ayaklı çıkıntıların birbirine yapışmasına da engel olur^{1,2,43}. Normal ve nefrotik proteinüri tanımı Tablo 3'de verilmiştir.

Hipoalbüminemi: Masif proteinüri sonucu oluşan hipoalbüminemi NS'un değişmez laboratuvar bulgusudur¹⁻³. İdrarla protein kaybı ile serum albümin düzeyi arasında ters ilişki vardır. Ancak bu her zaman geçerli değildir. Tedaviye cevapsız uzun süre proteinürisi devam eden çocuklarda protein ekskresyon hızında değişiklik olmaksızın serum albümin seviyesi normal veya normale yakın bulunabilmektedir. NS'da hepatik albümin sentez hızı

normal veya artmış olabilir⁴⁸. Hipoalbuminemisinin şiddeti hastadan hastaya değişiklik göstermektedir. Rölaps sırasında serum albumin seviyesi 0.5 gr/dl ile 2.5 gr/dl arasında değişmektedir^{42,43}.

Plazmadaki diğer protein anormallikleri γ -globülinde azalma, normal veya düşük α_1 -globülin, α_2 ve β -globülin ile fibrinojen seviyesinde artıştır. α_2 -globulin seviyesindeki artışın birikime bağlı olduğu düşünülmektedir. MLH başta olmak üzere NS'lu hastalarda IgG seviyesi azalırken IgM seviyesi artmaktadır^{3,38,42,43}.

Ödem: NS'un temel klinik bulgusudur^{1,2,38,42,43}. 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)^{42,43}. Bazı NS olgularında intravasküler volümün normal veya artmış ve plazma renin aktivitesinin artmamış olduğunun görülmesi, NS ödeminin oluşumunda başka faktörlerin de rolü olabileceğini düşündürmektedir. Bu olgularda sodyum tutulumunun intrarenal mekanizmalarla meydana geldiği düşünülmektedir (overfilling teorisi)^{42, 43}. Böbreklerden kaynaklanan sodyum birikimi kortikal toplayıcı kanallar ve birleştirici kanallarda bazolateral membranda Na-K-ATPaz yapımında ve apikal membrandaki epitelyal sodyum kanallarındaki (ENaC) geçirgenlik artışı sonucu oluşan artmış sodyum emilimi ve medüller toplayıcı kanallarda atrial natriüretik peptidin (ANP) natriüretik yanıtına cevapsızlık sonucu oluşur ve bunun aldosteron ile tam ilişkili olmadığı bildirilmektedir^{49- 52}.

Sodyum birikimi hipertansiyona yol açmaz fakat çoğu hastada vasküler volümde değişiklik yapmadan intertisyumda asimetrik genişlemeye yol açar. Ekstrasellüler volüm artışı Starling yasasındaki dengesizlikten çok endotelial kapiller membranın iç özelliklerinde değişiklik sonucu proteinlere geçirgenliği ve hidrolik geçirgenlikteki artışa bağlıdır⁵³.

Hiperlipidemi ve Hiperlipoproteinemi: NS'da kolesterol, trigliserid, fosfolipid ve yağ asitlerinin plazma konsantrasyonu artmıştır^{38,43}. Genellikle serum albumin seviyesi ile kolesterol seviyesi arasında ters orantı vardır³. Trigliseridlerin seviyesi daha değişken olup, hafif hipoalbuminemide normal sınırlarda bile olabilmektedir^{48,54}. Hipoalbuminemi gibi hiperlipidemi de artmış sentez veya azalmış yıkım sonucu meydana gelmektedir. Artmış sentez genellikle albumin sentez artışıyla birlikte. Çünkü lipoproteinler ve albumin birbirine çok yakın metabolik yollarla karaciğerde sentezlenmektedir³. Lipoprotein lipaz

aktivitesindeki azalmayla giden azalmış lipoprotein katabolizması da hiperlipidemiye katkıda bulunmaktadır^{55,56}.

Tablo 3. Normal ve nefrotik proteinüri tanımı⁴³

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

2.1.3. Klinik Bulgular

Nefrotik sendromlu hastaların tipik bulguları ödem, iştah azalması, irritabilite, gastrointestinal rahatsızlık ve enfeksiyonlara yatkınlıktır^{1,2,4,38,42,43}. Ödem başlangıcının glomerüler hastalığa spesifikliğı yoktur. Ancak MLH'lı çocuklarda hızlı ve progresif ödem gelişirken, MPGN gibi diğer glomerüler lezyonlarda ödemin gelişimi oldukça yavaştır. Ödem pozisyonla yer değiştirir, sabah göz kapaklarında sınırlandırılmış iken ayakta durmakla gün boyu lokalizasyonu alt ekstremitelere kayar. Asit, labial ve skrotal şişlik ve plevra efüzyonu çok ileri ödem tablosunda görülür. Jeneralize ödemin uzun süre devam etmesi durumlarında ödem batına sınırlanır, vücudun diğer bölgelerindeki ödem kaybolabilir^{1,2,38,42,43}.

Gastrointestinal bozukluklar arasında masif ödeme eşlik eden asit, bağırsak duvarı ödemi sonucu oluşan ishal, artmış albümin sentezine bağlı hepatomegali ve spontan peritonite bağlı akut batın tablosu bulunabilir. Aşırı asit ve beraberinde oluşabilen plevral efüzyon solunum sıkıntısı oluşturabilir^{42,43}.

Hipertansiyon MLH dışındaki diğer glomerüler lezyonlardan birine sahip hastalarda sık karşılaşılan bulgulardandır. Yine hipertansiyon çok basit şikâyetten ensefalopatiye kadar uzanan klinik tabloda karşımıza çıkabilir^{1,2,42,43}.

Hematüri MLH'da görülebilmesine rağmen beklenen bulgu değilken MLH dışındaki glomerülonefritli hastalarda daha sık görülmektedir^{1,38,42,43}.

2.1.4. Laboratuvar Bulgular

Nefrotik sendromlu hastalarda laboratuvar değerlendirme; NS'un teşhisi ve şiddetinin belirlenmesi, muhtemel etiyolojik etkenlerin tespiti ve renal biyopsi ile kesin histolojik teşhisin konması için yapılmaktadır⁴³.

İdrar stiği ile proteinüri, hematüri, mikroskopi ile hiyalen silindirler ve yağ cisimcikleri görülmektedir. Eritrosit, granüler, mumsu ve geniş silindirlerin varlığı MLH dışındaki glomerülonefritler lehine bir bulgudur^{38,43}.

Kantitatif proteinüri için zamanlı (tercihan 24 saatlik) idrar toplanması gereklidir. Çocuklarda normal değerler $<4 \text{ mg/m}^2/\text{st}$, nefrotik sınır ise $>40 \text{ mg/m}^2/\text{st}$ olarak tanımlanmıştır. İdrar protein/kreatinin oranını ise normalde 0,2 iken NS'da bu oran 2,0 seviyesine çıkmaktadır. NS'lu hastaların serum albümin değeri $2,5 \text{ mg/dl}$ 'nin altındadır. Hepatik sentez artışına bağlı α_2 ve β -globülin seviyesi artmıştır^{38,43}. Serum IgG seviyesi azalırken. IgM ve IgE seviyesi artar. Serum kolesterol ve trigliserid seviyesi artmıştır. Böbrek fonksiyonları için BUN ve serum kreatinin değerlendirilmesi gereklidir^{38,42,43}.

Serum kompleman seviyesi hipertansiyon, makroskopik hematüri veya azalmış böbrek fonksiyonu olan hastalarda ölçülmelidir. MLH'da kompleman seviyesi normalken, APSGN, MPGN ve SLE'da düşüktür. Hepatit ve sifiliz için serolojik değerlendirme yapılmalıdır. Yine risk grubundaki hastalarda HIV için araştırmanın yapılması gereklidir. Sekonder NS'a neden olduğundan SLE için ANA, Anti-DNA'da araştırılmalıdır⁴³.

2.1.5. Nefrotik Sendromun Tedavisi

Nefrotik sendromda destek tedavisi ve spesifik tedavi olmak üzere iki tedavi yaklaşımı uygulanır⁴³.

2.1.5.1. Destek Tedavisi

Nefrotik sendromlu çocukların destek tedavisinde önemli olan faktörler diyet, aktivite ve diüretik tedavisidir^{1,2,42,43}.

Diyet: Şiddetli ödem varsa tuz kısıtlamasına gidilir. Bu kısıtlama hastanın iştahını kaçırarak düzeyde olmamalıdır. Sıvı alımı hastanın isteğine bırakılmalıdır. Protein alımında artış ya da kısıtlamaya gerek yoktur⁴².

Aktivite: Aktivite kısıtlamasının hastalık ilerlemesine veya prognoza etkisi olmayıp, çocukları yatağa bağlamak imkânsız olduğundan aktivite kısıtlaması gereksizdir^{1,42,43}.

Diüretik Tedavisi: Diüretik tedavisi respiratuvar ve gastrointestinal bulgular veren masif ödem durumunda, gözlerin açılmadığı, aktivitenin kısıtlandığı, striaların olduğu ve akut böbrek yetmezliği olan vakalarda endikedir. Ayrıca diüretikler biyopsi öncesi ödemi azaltmak ve ödeme bağlı olduğu düşünülen deri ve periton enfeksiyonu varlığında verilir. Devamlı diüretik tedavisi dirençli ödemli vakalarda verilmektedir. Komplikasyonlarından dolayı albümin tedavisi seçilmiş vakalarda uygulanmaktadır^{42,43}.

2.1.5.2. Spesifik Tedavi

Kortikosteroid tedavisi NS'lu çocuklarda remisyon sağlamak için ilk kullanılacak ilaçtır. Sitotoksik ilaçlar steroide yanıt vermeyen vakalarda kullanılmaktadır. Son 40 yılda bu iki grup ilacın kullanıma girmesiyle NS'lu çocukların klinik seyrinde büyük iyileşme sağlanmıştır^{1,2,4,15,42,43}.

1) Kortikosteroidler: Günümüzde NS tedavisinde steroidlerin değişmez yeri olmasına rağmen kesinleşmiş tedavi rejimi bulunmamaktadır. Bununla birlikte 60 mg/m²/gün (2 mg/kg/gün) prednizolon, günde 3–4 eşit dozda başlanıp 4–6 hafta bu şekilde devam edilmesi, ardından 40 mg/m²/günaşırı tek doz 4–6 hafta, daha sonra da steroidin azaltılarak kesilmesi bugün kabul edilen tedavi protokolüdür⁵⁷⁻⁶². Relaps olan hastalarda ise proteinüri kaybolana kadar 60 mg/m²/gün yükleme dozunun 3–4 eşit dozda verilmesi, ardından 40 mg/m²/günaşırı tek doz 4 hafta süre ile verilip azaltılarak kesilmesi şeklinde uygulanmaktadır^{63, 64}.

Steroidlerin etki mekanizması; monosit ve lenfosit sayısında azalma, immünoglobülinlerin ve kompleman konsantrasyonlarında azalma, hasarlanma bölgesinde lökosit toplanmasında azalma ve membran stabilizasyonudur⁴³. Ancak NS'da steroidlerin hangi mekanizma üzerinden etki gösterdikleri bilinmemektedir. Steroid tedavisine cevap altta yatan glomerüler patolojiye bağlıdır. Altı haftalık tedaviden sonra MLH'lı hastaların % 95'i remisyona girmektedir. İlk 1–2 haftada ise steroide cevap % 75 oranında gerçekleşmektedir^{1,2,4,15,43,64,65}.

Pulse Metilprednizolon: Steroide cevapsız bazı vakalarda (örneğin FSGS gibi) yararlı olduğu gösterilmiştir^{43,66}. Doz IV 20-30 mg/kg olup, bu doz 3-6 kez yada bazı protokollerde daha uzun süreli önerilmektedir^{1,2,43,67}.

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 sağlanmasıdır⁴³. Tedavi başlamadan önce bu ilaçların yan etkileri hakkında bilgi verilmeli ve onay alınmalıdır.

Siklofosfamid: Alkilleyici bir ajan olup, hem immünosüpresif hem de sitotoksik etkilerini DNA üzerinden hücrenin mitotik aktivitesini engelleyerek göstermektedir. Hem hücresel hem de humoral immunitiyi etkilemekle birlikte daha çok B hücreleri üzerine etkilidir. Böbrek yetmezliği durumlarında ilacın atılımı gecikir ve toksik etkileri artar⁴³. 2–2,5 mg/kg/gün dozuyla başlanıp 8–12 hafta süre ile birikmiş doz 168 mg/kg'ı geçmeyecek şekilde verilir. Remisyon süresi tedavinin süre ve dozuna bağlıdır. 12 haftalık tedavinin 8 haftalık tedaviden daha üstün olduğu bilinmektedir⁶⁸. Son yıllarda özellikle yan etkilerinin daha az görülmesi ve oral tedavi ile aynı derecede etkinliğe sahip olması nedeni ile ayda bir 500 mg/m²/doz I.V. pulse tedavi oral tedavinin yerini almaya başlamıştır. İlk altı ayda cevap yoksa tedavinin kesilmesi, cevap varsa 2 ayda veya 3 ayda bir aynı doz ile 12–24 ay kadar tedavinin devam ettirilmesi önerilmektedir^{3,9,69}. Siklofosfamidin gonadal toksisitesi son derece önemlidir⁸, IV pulse kullanım ile daha azaldığı bildirilmektedir^{9,69}. Hemorajik sistit siklofosfamid kullanımında daha sık görülen bir komplikasyondur.

Klorambusil: Alkilleyici bir ajan olup etkisi siklofosfamide benzer. Ağızdan emilim hızlı olup, karaciğerde hızla metabolize edilir. İdrarla atılımı gözardı edilecek kadar azdır⁵⁴. 0,1–0,2 mg/kg/gün birikmiş doz 7-10 mg/kg'ı geçmeyecek şekilde 8–10 hafta süre ile verilir^{70,71}.

Alkilleyici ajanların yan etkileri hızlı mitoz gösteren hücreler üzerinde çok belirgindir. Sıklıkla lökopeniye neden olurlar. Beyaz küre sayımı haftalık yapılmalı ve $4000/\text{mm}^3$ 'ün altında tedavi kesilmelidir. Bu süpresyon geri dönüşümlüdür. Bulantı, kusma, alopesi diğer yan etkilerindendir. Bu ilaçlarla lösemi geliştiği bildirilmiştir^{2,8}.

Azotiopirin: Dokularda 6-merkaptopürine transforme olur. IV ve oral kullanılabilir. Oral alındığında Emilimi oldukça iyi olup karaciğerde metabolize edilir ve böbrekler yoluyla atılır. En sık görülen yan etkisi kemik iliği süpresyonu sonucu gelişen lökopenidir. Makrositoz, hepatit ve enfeksiyona duyarlılık diğer yan etkilerdir⁴³. 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^{72,73}.

Levamisol: T-hücre stimülasyon özelliğine sahip immünomodülatör etkili antihelmintik bir ilaçtır. Bazı steroidde duyarlı ve bağımlı vakalarda remisyon sağladığı bilinmektedir. Ancak dozu, süresi ve endikasyonu tam olarak ortaya konmuş değildir. Önerilen doz 2 mg/kg günde bir olup, 1–18 ay süre ile verilmektedir^{6,38,43,74-79}.

Siklosporin A: T-hücrelerini baskılama özelliğine sahip bir immünsüpresiftir. Önerilen doz 5–7 mg/kg/gün 6 ay süre ile ardından uzun süre 2 mg/kg/gün'dür. Nefrotoksisite, hepatotoksisite, gingival hiperplazi, tremor ve nadiren konvülsiyon gibi nörolojik bulgular, enfeksiyon insidansında artış, hiperürisemi ve gut yan etkilerindendir^{80,84}.

Takrolimus: CD₄ helper hücreler üzerinde nispeten seçici inhibitör etkiye sahip, makrolid grubu bir antibiyotiktir. Siklosporinden farkı sitokinler üzerinde daha fazla süpresör etkiye sahip olmasıdır. Bunun için FSGS patogenezinin sorumlu geçirgenlik faktörlerini daha fazla süprese eder. İlk kullanım amacı organ nakli hastalarında immünsüpresyonu sağlamak iken, yukarıdaki özelliklerinden dolayı son zamanlarda diğer tedavilere cevapsız nefrotik sendromlarda alternatif tedavi olarak kullanılmaya başlanmıştır. Plazma takrolimus seviyesini 50–100 µg/L de tutacak şekilde 0,1 mg/kg/gün 2 eşit dozda verilmesi önerilmektedir. Yan etkileri siklosporinle aynı olmakla birlikte nefrotoksisitenin daha az şiddette olduğu kabul edilmektedir^{10,11,85}.

Mikofenolat Mofetil: MMF özellikle organ naklinde kullanılan etkin bir immünsüpresif ilaçtır. Günümüzde özellikle lupus nefritinin tedavisinde etkili olduğu

ortaya konmuştur. Ancak çoklu ilaç direnci olan nefrotik sendromların tedavisinde de kullanılmaya başlanmıştır^{12,86}. Dozu yetişkinlerde 1–2 gr/gün bölünmüş dozda önerilirken, çocuklarda 15–30 mg/kg bölünmüş dozların yeterli olacağı ileri sürülmektedir.

3)Vasküler Dinamizmi Değiştiren ve Antikoagülan İlaçlar

Anjiotensin Konverting Enzim İnhibitörleri (ACE): Antihipertansif etkiye sahip ACE inhibitörlerinin kullanılmasıyla hayvan modellerinde proteinürinin azaldığı gösterilmiştir^{87,88}. Proteinüriyi azaltma etkisi başlangıçta % 10-20’iken tedaviye devam ediliese %50’ye kadar çıkmaktadır. Etki mekanizması bilinmemekle birlikte hemodinamik değişiklikler üzerinden etkili olduğu sanılmaktadır^{89, 90}.

Nonsteroid Antienflamatuvar İlaçlar: Bu grup ilaçların proteinüriyi azalttığı ilk defa 1955 yılında gözlenmiştir. Özellikle indometazinin proteinüriyi azalttığına dair yayınlar olmasına rağmen sonuçlar pek ümit verici değildir³⁸.

Antikoagülan ve Antitrombotik İlaçlar: Son 20 yıldır glomerüler hastalıkların ilerlemesinde koagülasyon sisteminin ya da trombositlerin etkilerinin olup olmadığı tartışma konusudur. Ancak hayvan ve insan modellerinde antikoagülan tedavinin yeri halen açıklanamamıştır. Donadio ve arkadaşları aspirin ve dipiridamolle MPGN’de iyi sonuçlar bildirmişlerdir. Kincaid-Smith ve ark. siklofosfamid, kumadin ve dipiridamol ile MPGN’de böbrek sağ kalımında belirgin düzelme göstermişlerdir⁴³.

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.

1-Puromisin Aminonükleozid Nefriti: Puromisin aminonükleozid nefritinin (PAN) MLH benzeri hastalık oluşturduğu kabul edilmektedir^{91,92}. Glomerül geçirgenliği üzerindeki değişiklikler ve morfolojik değişiklikler PAN’ın intraperitoneal verilmesini takiben 24 saat gibi erken dönemde ortaya çıkmaktadır. Ayaksı çıkıntılarda düzleşme tipik bulgulardandır⁹³. Glomerüler bazal membranın hacim ve yük değişkenliğinin etkilenip etkilenmediği tam aydınlatılmış değildir^{92,94,95}. Albüminürinin şiddeti ayaksı çıkıntılardaki değişikliklerin şiddeti ile yakından ilgili bulunmuştur^{96,97}. Bu konuda yapılan son zamanlardaki bir çalışmada ise PAN uygulamasından sonra oluşan NS’da nefrinin dramatik şekilde azaldığı gösterilmiştir⁹⁸. PAN mesangial hücreleri, endotelial hücreleri ve

inflamatuvar hücresel yanıtı etkilememektedir, podositlere spesifik toksisitesi vardır. PAN'nın toksik etki mekanizması tam anlaşılamamakla birlikte, oksijen radikallerinin rolü olduğu bildirilmektedir^{99,100}.

2-Adriamisin (doxorubicin) ile Oluşturulan Nefrotik Sendrom:

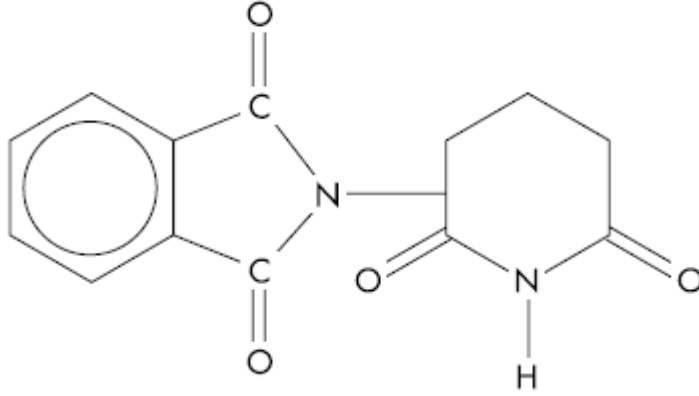
Antineoplastik bir ajan olan adriamisin 4-6 hafta içerisinde hafif derecede renal yetmezlikle birlikte giden NS tablosuna neden olmaktadır^{39,40,96,97}. Bunun için progresif glomerüler hastalığa neden olmaktadır^{91,97}. Nispeten renal fonksiyonların korunmasıyla birlikte uzun süreli proteinürinin devam etmesi ile 12-16. haftalarda FSGS tablosu oluşmasına yol açar^{101,102}. NS ve tedavisi için kullanılan ajanların böbrek üzerindeki uzun vadeli etkilerini ortaya koymak için ideal bir model oluşturur⁹⁸.

Adriamisin proteinürinin başlamasından önce heparan sülfatın elektriksel yoğunluğunda ve glomerüler kapiller duvarda epitelyal membran sialik asitte hızlı ve devam eden bir azalma oluşturur¹⁰³. Glomerüler elektriksel seçiciliğin bozulması adriamisin nefrozisinin bu döneminde önemli bir role sahiptir^{104,105}.

Bu modelde de hacim ve yük seçiciliği üzerine etkiler konusunda literatürde çelişkili bilgiler bildirilmektedir. Ancak çoğunluk hacim bariyerindeki kayba bağlı olduğunu kabul etmektedir⁹⁸. Morfolojik incelemelerde ise heparan sülfatta azalma olmaksızın epitelyal ayrışmanın olması dikkati çekmektedir¹⁰⁶. Bunun dışında reaktif oksijen radikallerinin de bu modelde proteinüriden sorumlu olduğu ileri sürülmüştür^{32,107-109}. Düşük proteinli diyet ve ACE inhibitörü kullanımı bu modelde glomerüler patolojinin ilerlemesini engelleyebilmektedir¹¹⁰.

3-Heymann Nefriti: İnsan membranöz glomerülo nefritine benzer bulgular ortaya çıkaran otoimmün bir patolojidir^{41,111}. Sıçan böbrek korteksinden hazırlanan ekstre ile aynı tür sıçanın immunize edilmesi sonucu ortaya çıkar. İmmünizasyonu takip eden 6-8 hafta içerisinde proteinüri çıkar ve 6-8 hafta devam eder. Burada antikorlar glomerül kapiler epitelyum hücrelerinde ve proksimal tübülüs fırçamsı kenar epitelyum hücrelerinde bulunan antijene karşı oluşmuştur¹¹². Antikor toplanması MGN ile bire bir uyumludur¹¹¹⁻¹¹³.

2.3. Talidomid



Şekil 1: Talidomidin kimyasal yapısı²²

Talidomid CIBA ilaç firması tarafından 1954’de Almanyada üretilmiş ve sedatif, trankilizan ve sabah bulantısı için antiemetik olarak kullanılmıştır¹¹⁴. Barbitüratlara kimyasal benzerliği nedeni ile, popüler bir sedatif olarak 50 ülkede 40 farklı jenerik isimle satılmaya başlanmış, fakat geri dönüşümsüz nörit potansiyeli ve ilaç güvenliği hakkında artan uyarılara bağlı FDA onayını asla alamamıştır^{115,116}. Tek doz talidomid alan gebelerin bebeklerinde ekstremitte anomalileri (fokomeli, dysmeli, ameli, kemik hipoplastisi) ve diğer konjenital defektler (kulak, kalp, iç organ) ilk bildirimlerinden sonra Avrupa ve Kanada’da 1961-1962 yıllarında ilacın satılması yasaklanmıştır^{115,117}.

Gebeliğin 3-8 haftasında alınan ilaç yüksek teratojenite riskine sahiptir. Dünyada yaklaşık 10.000 çocuk talidomidle ilişkili doğumsal anomalilerle doğmuştur^{117,118}. Eritema nodozum leprozum lezyonlarında etkin bir tedavi sağladığı için 1965’de ilaç yeniden gündeme gelmiş ve 1998’de bu endikasyon için FDA onayı almıştır¹¹⁹.

1994’de D’Amato ve ark. talidomid ile ilişki malformasyonların vaskülogenezisteki ilaç etkileşimi sonucu oluştuğunu göstermiş ve bunun solid tümörlerdeki kan damarlarının büyümesini benzer mekanizma ile engelleyebileceğini öne sürmüşlerdir¹¹⁴. Antiinflamatuvar, immun modulator ve antianjiyogenik ajan olarak talidomidin takdiminden araştırmacılar ilham almış ve günümüzde bir çok hastalığın tedavisinde talidomid 2-8 mg/kg/gün dozunda tedavi protokollerine girmiştir. Fakat ilaç satışının yan etkileri nedeni ile talidomid eğitim ve reçetelme güvenlik programı (STEPS) tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilmesi nedeni ile çok zor reçetelenebilmektedir²³.

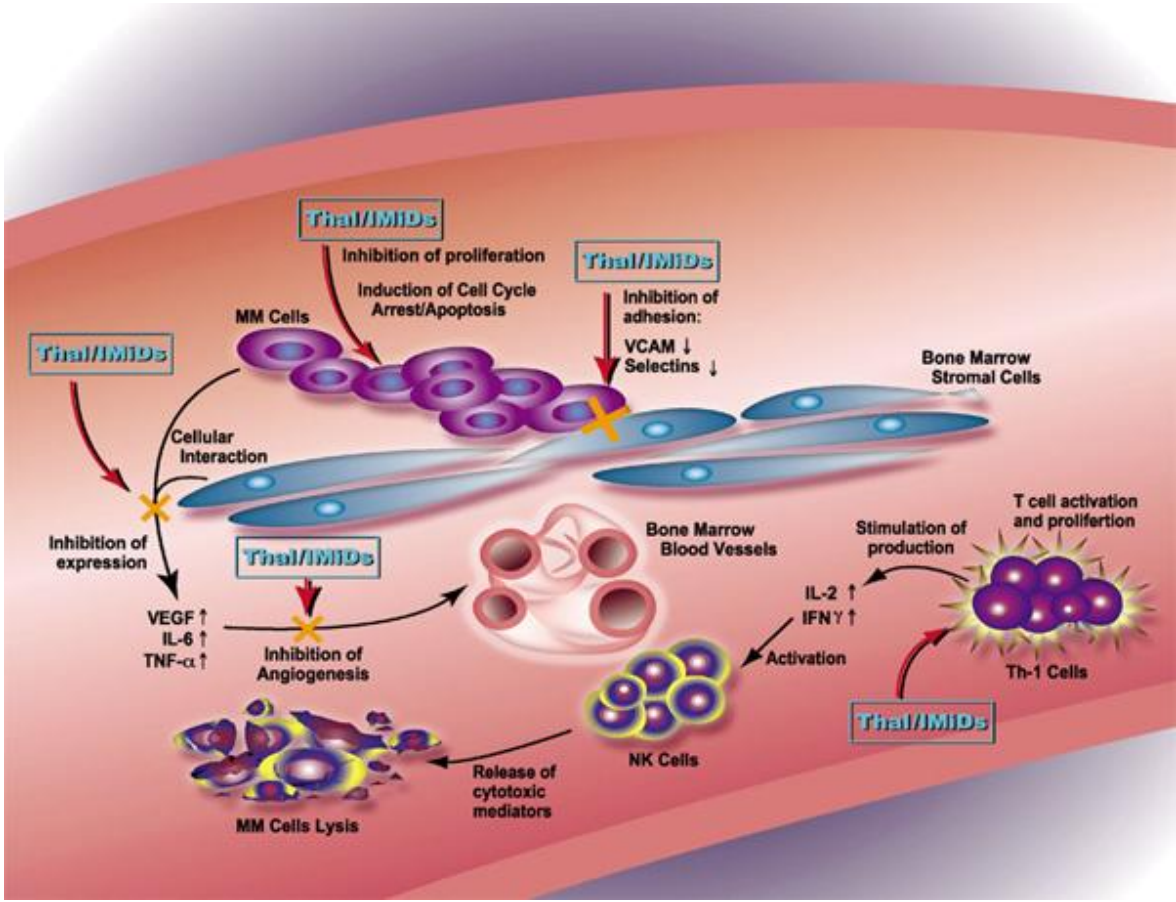
2.3.1 Talidomidin Yapı ve Biyoaktivitesi

Talidomid molekülü fizyolojik koşullar altında birbirine dönüşebilen S (-) ve R (+) enantimerlerden oluşan rasemik bir glutamik asit analogudur¹²⁰. S (-) formu güçlü bir mononükleer hücrelerden TNF- α salınım inhibitörüdür, halbuki R (+) formu ön beyinde muhtemelen uyku reseptörleriyle ilişkili bir sedatif olarak hareket etmektedir^{121,122}.

Talidomidin parçalanması ile 20'den fazla ürün ortaya çıkar, ve onların aktiviteleri, küçük damar oluşumuna etkileri veya aortik endotel hücre proliferasyonunun azalmasının, onun metabolizmasına dayandırıldığı görülmüştür¹²³. Aktif metabolitin talidomidin sitokrom p450 2C19 (CYP2C19) izozim ilişkili oksidasyonu ile ortaya çıkarıldığı görülmüştür¹²³. Talidomidin metabolizmasının onun immünomodulator aktivitesi için özel katkısı olup olmadığı, bu nedenle henüz tam anlaşılamamıştır.

2.3.2 Talidomidin Etki Mekanizması

Talidomidin immünomodulator, antiinflamatuvar ve antianjiyogenik özelliklerinin altında yatan mekanizmalar tam olarak açıklanamamış olsa da, TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-10, IL-12, γ - interferon (IFN- γ), siklooksijenaz 2 (COX-2), ve muhtemelen NF κ B transkripsiyon faktör gibi inflamatuvar sitokinlerdeki değişikliklerle oluşmaktadır. TNF- α inflamatuvar kaskadı düzenleyen proinflamatuvar bir sitokindir ve inflamatuvar hastalıklarda hastaların dokularında sitokinlerin konsantrasyonlarında değişiklikler bildirilmiştir¹²⁴. Talidomidin TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12, IFN- γ ve granülosit-makrofaj koloni stimulan faktör'ü (GM-CSF) baskımlarken, IL-2, IL-4 ve IL-10'u uyardığı görülmüştür¹²⁵. Talidomid TNF- α mRNA sını parçalayarak lipopolisakkaridlerle ilişkili insan monositleri ve sıçan makrofajlarında TNF- α üretimini baskılar^{126,127}. Talidomidin insan T lenfositlerinin proliferasyon, sitokin üretimi ve sitotoksik aktivitelerini uyardığı bildirilmiştir¹²⁸. Bu uyarı antijen-spesifik cevap oluşturmak için naïve T hücrelerine ikincil uyarının oluşumunda içerir. İlacın immünomodulator ve antianjiyogenik etkileri muhtemelen antitümör yanıtına katkıda bulunur. İmmün yanıtın talidomid ilişkili baskılanması ve anjiyogenez muhtemelen TNF- α gibi sitokinleri etkilemesiyle ilişkilidir²³.



Şekil 2: Talidomidin antikanser tedavide kullanımı²³

İnflamatuvar uyarıya cevapta, lökositler hasarlanmış dokuya; yakalama, yuvarlanma, sıkı bağlanma, endotelyuma göç ve kemotaksisle gelirler. Talidomid umbilikal ve endotel hücrelerinde TNF- α 'nın uyardığı hücre yüzey adezyon molekülleri ICAM-1, VCAM-1, fibroblast growth faktör (FGF), vasküler endotelial growth faktör (VEGF) ve E-selektin düzeylerini azalttığı bildirilmiştir¹²⁹.

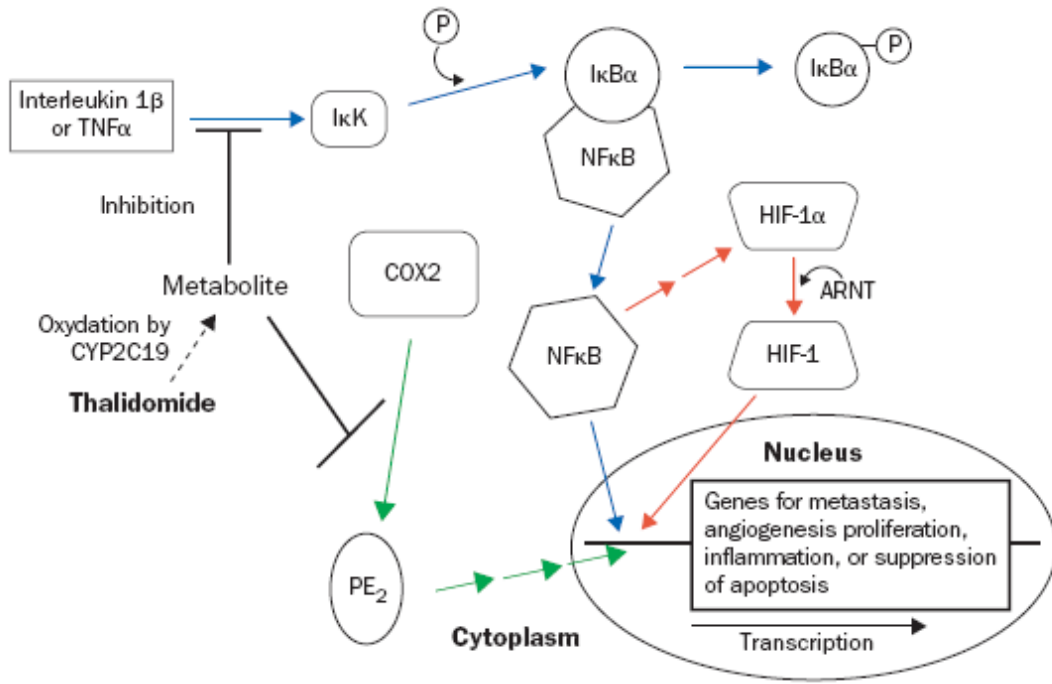
Talidomidin sağlıklı insanlarda ve sklerodermada oral verildikten sonra IFN- γ ve IL-2'de artışla Th-1 yanıtı uyarıldığı bildirilmiştir¹³⁰. Multibl myelomlu hastalarda IFN- γ ve IL-2'deki artış NK hücrelerini arttırarak multibl myelom hücrelerinin lizisini arttırmaktadır¹³¹. Kanserle ilişkili büyüme faktörü IL-6'nın doza bağımlı baskılanması talidomid tedavisi sonrası bildirilmiştir¹³². Benzer şekilde, ilaç mitojenlerin uyardığı periferik kan mononukler hücrelerinde interferon γ üretimini, kondrogenezis ve ekstremitte tomurcuğu gelişiminde insülin benzeri büyüme faktörü 1'in uyarıcı etkilerini baskılar, talidomid $\alpha v \beta 3$ integrin geninin büyüme faktörü ilişkili aktivasyonunu baskılayabilir, ve

böylece ekstremitte tomurcuğu gelişiminde anjiogenezis uyarısını önler^{133,134}. İntegrin ve büyüme faktörü gen salınımının etkileşimi NF-κB yoluyla immünomodülatör cevaba katkıda bulunabilir¹³⁵. Kanseri hücrelerinde talidomidin etkisi, anjiogenezis için gerekli integrinlerin üretiminde azalmadır. Talidomidin antianjiogenik etkisi immünomodülatör ve anti TNF etlisinden bağımsız oluşmaktadır^{25,114}. Multibl myelomda proanjiogenik faktör VEGF ve IL-6’da artış olduğu bildirilmiştir^{136,137}. Multibl myelomda hücre adezyonunda ve ilaç rezistansında azalma, apoptozun uyarılması, kemik iliğinde anjiogenezin baskılanması ve naturel kiler hücrelerin uyarılması (IL-2 ve IFN-γ ilişkili T hücre proliferasyonunun artışı sonucu) ve naturel kiler hücrelerin sitotoksitesinde artışına yol açar^{114, 131, 137-139} (Şekil 2).

TNF-α (veya IL-1β) NF-κB vasıtasıyla bilinmeyen bir yolun vasıtasıyla böbrek hücrelerinde inflamatuvar ve anjiogenik faktör hipoksi-oluşturabilen faktör 1α birikimini uyarabilir¹⁴⁰. Talidomidin etki mekanizması konusundaki kabul edilen görüş, sitokinlerdeki değişikliklerin primer rol oynadığıdır. Yinede, TNF-α, VEGF, IL-6 da değişiklik olmadığını bildiren bir yayında vardır. Buda başka mekanizmalarında rol oynayabileceğini desteklemektedir¹⁴¹.

Talidomidin anti-inflamatuvar ve antianjiogenik fonksiyonları transkripsiyonal faktör NF-κB yoluyla kontrol edilir. Bu faktör sitoplasmada yerleşmiştir, ve Iα-Bα ve diğer Iκ-B benzeri proteinler gibi baskılayıcı proteinlerle çevrilmiştir. TNF-α veya IL-1β gibi uyarıcılarla stimüle edildiğinde, bir fosforilasyon kaskadı NF-κB’den inhibitör proteinlerin ayrışmasıyla sonuçlanır, hücre büyümesini etkileyen genlerin salınımı aktive olup, apoptoz, metastaz ve immün ve inflamatuvar baskılanma serbestleşir¹⁴²⁻¹⁴⁵. Talidomidin oluşturduğu NF-κB’nin inaktivasyonu endotelial, epitelyal, T hücre ve myeloid hücreleride içeren bir çok hücrede gelişmektedir¹⁴²⁻¹⁴⁶. Talidomid metaboliti 5-hidroksitalidomid onun immünoomodülatör etkileri kadar onun antianjiogenik etkilerini uyarabilir.

Talidomid COX-2’nin mRNA’sını bozarak lipopolisakkarit ilişkili uyarılmasını ve sonuçta oluşan prostoglandin-E2 biosentezi baskılar, bu onun antianjiogenik aktivitesini bir parça açıklayabilir¹⁴⁷. COX-2 bir çok insan kanser türünde bol miktarda bulunmaktadır, ve sıçan korneal modelinde anjiogenezis için gereklidir^{22, 148, 149} (Şekil 3).



Şekil 3: İmmun yanıt ve anjiogeneizde talidomidin etki mekanizmaları²²

2.3.3. Talidomidin Kullanıldığı Hastalıklar

Dermatology

1965'den sonra talidomide yeniden oluşan ilgi, onun eritema nodozum leprozum, subkütan ağrılı nodüllerle karakterize lepranın vaskülütik komplikasyonları, ateş ve diğer konstitüsyonel bulgularına yararlı olabileceği bulundu. 15 yılda 4000'den fazla hastadan elde edilen veri 24-48 saat içerisinde %99 hastada cevap oluştuğunu göstermiştir¹⁵⁰. Sarkoidozun granümatöz lezyonlarında da aynı derecede etkilidir¹⁵¹.

Lupusun dirençli cilt lezyonlarının tedavisinde talidomid orta derecede etkiliyken, eklem ve iç organ tutulumundaki etkisi tartışmalıdır¹⁵²⁻¹⁵⁵. Behçet hastalığının oral ve genital lezyonlarında talidomid tedavisinden sonra düzelme bildirilmiştir^{156,157}.

Talidomid tedavisinin piyoderma gangrenozum, prurigo nodularis, porfiria kutanea tarda, liken planus gibi dermatozların takibinde yararlı olduğunu bildiren yayınlar vardır¹⁵⁸.

Romatoloji

TNF-α ile ilişkilendirilen bir hastalık olan dirençli romatoid artritde talidomidin etkisi eklem ağrısında değişkendir. Bir yayında romatoid faktörde azalma ile %80 tam veya kısmi yanıt bildirilmiştir¹⁵⁹. Ankilozan spondilit, Still's hastalığı, sistemik sklerozis,

sjögren sendromu ve diğer romatolojik hastalıklarla ilgili talidomidle sınırlı sayıda hasta içeren çalışmalar mevcuttur¹⁶⁰.

Gastrointestinal

TNF- α ve IL-12 ile kısmi ilişkilendirilen crohn hastalığı steroide bağımlı hastalarda kısa sürede talidomidle etkin olarak kontrol edilebilmiştir¹⁶¹⁻¹⁶³. Ayrıca steroid dozunda yarıya düşürmüştür.

HIV-1

Talidomid HIV-1'deki Kaposi Sarkomunda orta derecede etkili bulunmuştur^{164,165}. Oral aftöz lezyonlarda %50'nin üzerinde düzelme, gastrointestinal şikayetlerde azalma, kilo kaybında azalma da bildirilmiştir^{166,167}.

Konjestif Kalp Yetmezliği

İlerlemiş kalp yetersizliği TNF- α 'yıda içeren inflamatuvar mediatörlerde artışla karakterizedir. Talidomid verilerek yapılan sınırlı bir çalışmada fonksiyonel kapasite, ejeksiyon fraksiyonunda düzelme bildirilmiştir¹⁶⁸. Multibl myelom, prostat kanseri, renal hücreli karsinom, glioma, kolorektal kanserler, melanomada ve kansere destek tedavisinde özellikle anoreksiada da kullanılmaktadır.

2.3.4. Yan etkiler

Teratojenite ve sedasyon en sık görülen yan etkilerdir, periferik nöropati onları takip eder^{119,169,170}. Diğer yan etkiler kızarıklık, dengesizlik, kabızlık, tremor, kişilik değişikliği, derin ven trombozu ve baş ağrısıdır^{171,172}. Daha az görülen komplikasyonlarda toksik epidermal nekrolizis, ağır hepatik toksisite, hipotiroidizm, bradikardi ve CD34+'de azalmadır^{173,174}.

2.4. Tümör Nekrozis Faktör-Alfa

TNF- α monositler, T lenfositleri, makrofajlar ve natural killer (NK) hücreleri tarafından sentezlenen ve sekretuar formu 17 KD, membran formu 26 KD olan bir proinflamatuvar sitokindir¹⁷⁵. Organizmada başlıca etkileri nötrofil ve T hücre aktivasyonu, NK hücrelerin aktivitesinin artırılması, kemotaksisin uyarılması, enflamasyonun akut faz cevabının uyarılması, endotel hücreleri üzerinden adezyon moleküllerinin ekspresyonunun

uyarılması, çeşitli hücrelerden sitokin üretiminin uyarılması ve bazı hücre tiplerine güçlü sitotoksik etkidir. TNF- α bu etkilerinin yanı sıra apoptozun uyarılması, B hücrelerinin proliferasyonu ve maturasyonunun uyarılması, pirogenezis, septik şok, kemik rezorpsiyonu ve katabolizmanın arttırılması gibi etkilere de sahiptir¹⁷⁶⁻¹⁷⁸. TNF- α biyolojik etkilerini yaygın olarak bulunan özel reseptörlere bağlanarak oluşturulur. TNF- α iki tip reseptöre bağlanır; TNF reseptör tip 1 (55 kDa (p55)) ve TNF reseptör tip 2 (75 kDa (p75)). Her iki reseptör hücre proliferasyonu ve olgunlaşması, sitotoksisite ve antiviral aktivite için sinerjik hareket eder ve gereklidir, fakat p55 NF κ B uyarılması ve apoptozun oluşumundan sorumludur^{179,180}. TNF- α reseptörlerinin hücre dışı domainlerinin kopan parçaçıkları sTNFr p55 ve sTNFr p75 olarak bilinen, soluble formları olarak salınır ve kronik inflamasyon, AIDS, sepsis ve malignansili hastaların serumlarında bulunabilir¹⁸¹.

Yapılan çalışmalarda, TNF- α 'nın mesangial, glomerüler, ve tubuler epitelial hücreleri içeren intrinsik renal hücreler tarafından da üretildiği bildirilmektedir¹⁸²⁻¹⁸⁹. Renal epitelyal hücreler TNF (TNFR1) bağlanması için yüzey reseptörlerine sahiptir¹⁸⁹.

TNF- α insan ve hayvan böbrek hastalıklarında hasarlanma ve inflamasyonda rol oynayan en önemli sitokindir¹⁹⁰⁻¹⁹⁶. Adriamisin ile oluşturulan nefropatide TNF- α 'nın albuminin glomerüler geçirgenliğini arttırarak proteinüriyi arttırdığı bildirilmektedir^{197,198}. Anti TNF antikorları ile pasif immunizasyon albuminüri ve lökosit infiltrasyonunu azaltmaktadır^{199,200}. Glomerüler hastalıkların patogeneğinde TNF- α 'nın rolü kan akımının ve filtrasyon hızının azalması, kapiller duvar bariyer fonksiyonunda değişiklikler, kapiller trombus oluşumu ve kan kaynaklı hücreler tarafından böbreğin infiltrasyonunu içerir²⁰¹. TNF NF- κ B gibi değişik biyolojik cevaplara yol açan hücre uyarı yollarını aktive eder²⁰². NS'lu hastalarda, deneysel NS modellerinde ve PBMC hücre kültürlerinde serum, idrar ve dokuda TNF- α düzeylerinde hastalık döneminde artış, remisyon döneminde düzelme olduğunu bildiren yayınlar olduğu gibi bu artışın dokuda olduğu için serum ve idrar örneklerine yansımayacağını bildiren yayınlarda vardır^{192-196, 203-213}.

TNF- α ile proteinüri arasındaki ilişkiyi açıklamak için bir çok mekanizma bildirilmiştir. Hasarlanma bölgesine lökositlerin göçü yanında sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin uyarılması gibi intrinsik hücrelerdeki biyolojik değişikliklerde TNF- α salınımından sorumlu tutulmuştur²⁰⁴. Süperoksitlerin yapımı, glomerüler bazal membranda anionik bölgenin azalması, endotelial ve mezengial hücrelerde değişikliklerin uyarılması, sülfatlanmış glikozaminoglikanların dağılımı ile ilişkili mekanizmalar tarafından

glomerüler bazal membranın hasarlanması, TNF- α ve proteinüri arasındaki ilişkiyi açıklayan diğer mekanizmalardır^{204,206,214,215}.

2.5. İnterlökin-6

İnterferon-beta2, 26kDa protein, beta cell stimulatory factor, sitotoksik T hücresi farklılaşma faktörü ve makrofaj granülosit uyarıcı faktör 2A gibi değişik isimlerle daha önce tanımlanan IL-6, cDNA sequence 212 aminoasitlik 2 potansiyel N-glikolizasyon bölgesi olan bir proteinden oluşur. IL-6'nın farklı hücrelerde farklı etkileri vardır²¹⁶. Mononükleer fagositik hücreler IL-6'nın en önemli kaynağıdır. Bununla birlikte IL-6, T ve B lenfositlerden, keratinositlerden, fibroblastlardan, hepatositlerden, nöroglial hücrelerden, makrofajlar, vasküler endotel hücreleri, kemik iliği stromal hücrelerinden, kardiyak miksomal, mesane hücresi karsinomları, myelomalar, astrogliomalar ve glioblastomalardan sentezlenmektedir. IL-6'nın hedef hücreleri T ve B lenfosit, hepatosit, endotelyal hücreler, keratinosit, hematopoetik hücrelerdir.

IL-1, IL-2 ve TNF- α IL-6 sentezini arttırırken, IL-4 ve IL-13 sentezini inhibe etmektedir^{217,218}. IL-6 B lenfositleri uyararak olgun plasma hücrelerine dönüşümünü hızlandıran, IL-1'i uyarıp ateş ve akut faz yanıtını oluşturan, hepatositlerden CRP, fibrinojen, haptoglobulin ve amiloid gibi akut faz proteinlerinin sentezini arttıran, IFN'ler gibi antiviral etkiye sahip, anti tümör etkinliği olduğu kabul edilen bir sitokindir²¹⁸. IL-6 IL-1beta, TNF veya hasarlanmada tüm hücreler tarafından sentezlenen pleotropik bir sitokindir. IL-6 akut faz proteinlerinin salınması, ateş oluşumu ve ACTH salınımında içeren inflamatuvar yanıt ve reaktif oksijen radikallerinin salınımında azalmaya sebep olur²¹⁹⁻²²⁰. IL-6 IL-1 ve TNF salınımını azaltarak lökositlerde anti inflamatuvar yanıt, IL-1ra ve IL-1RII-2 decoy reseptörünün salınımında artışa, TNF soluble reseptör salınımında artışa ve reaktif oksijen radikallerinin salınımında azalmaya sebep olur²¹⁹⁻²²².

IL-6 hem türler hem de hastalıklarda böbrekte karışık etkiye sahiptir. Önceleri IL-6'nın mezangial hücre proliferasyonunu arttırdığı bildirilirken son çalışmalar bunu desteklememektedir²²³⁻²²⁴. Yinede bunun inflamasyonun sebebini sonucumu olduğunu bilmek mümkün değildir. IL-6 infüzyonunun Thy 1.1 nefritli sıçanlarda mesangial proliferasyonu arttırmadığı tespit edildi²²⁵. IL-6'nın nefrotoksik nefritli sıçanlarda nötrofil

infiltrasyonunu, makrofaj aktivasyonunu, idrarda IL-Ibeta atılımını ve albuminüriyi azatlığı bildirilmektedir²²⁶⁻²²⁷.

2.6. Apoptozis ve Böbrek Hastalığı İlişkisi

2.6.1. Apoptozis

Apoptozis eski yunanca'da sonbaharda sararıp düşen yapraklar için kullanılan bir terimdir. Programlı hücre ölümü olarak da tarif edilen apoptozis aktif enerji gerektiren moleküler bir program kullanılarak istenmeyen hücrelerin düzenli olarak ortadan kaldırılması işlemidir^{28,29}. Apoptozis, organizmanın hücre sayısı ve doku hacmini kontrol edebilmesi ve homeostazı tehdit eden başına buyruk hücrelerden kendilerini koruyabilmesi için gereklidir²⁸. Embriyolojik, neoplastik ve immünolojik olayların gelişmesinde çok önemli role sahiptir²⁹⁻³⁴.

1972 de Kerr ve ark. apoptozisi (Yunancada falling off= azalma'dan türemiş) yeni fizyolojik proses olarak tanımladılar²²⁸. Apoptozis giden hücreler hızla büzüşür, ve normal hücre içi bağlantılarını kaybeder, yoğun kromatin yoğunlaşması gösterir, nükleer parçalanma, sitoplasmik kabarcıklanma, hücresel parçalanma ve küçük apoptotik cisimcikler oluşur. Bu apoptotik cisimcikler komşu hücreler ve makrofajlar tarafından hızla ortadan kaldırılır. Apoptoz sırasında hücreler arası ortama sitozolik içerik salınmaz ve inflamasyon tetiklenmez. Milyonlarca hücre olan preparatlarda apoptozu tespit etmek zordur, çünkü apoptoz oluşan morfolojik değişiklikler 1 saatten daha kısa sürede oluşmakta ve tamamlanmaktadır. Buda apoptozun programlı bir hücre ölümü olduğunu düşündürmektedir. Apoptotik hücre ölümü gelişmiş dokuda gelişmenin ve dengenin önemli bir parçasıdır. Hızlı gelişen ve sayısı artan dokularda granülositler gibi apoptoz hızı fazla iken kendini yenileme yeteneği olmayan sinir hücreleri gibi dokularda apoptoz hızı çok yavaştır²²⁹.

Apoptotik hücrelerde görülen birçok morfolojik değişiklik bu hücrelerde aktive olan sistein proteazlar tarafından meydana getirilir. Ölüm proteazları adı da verilen bu enzimler birbirine genel anlamda benzer olup kaspaslar olarak adlandırılan büyük bir protein ailesine dahildirler²³⁰. İnsanlarda bir düzine kaspas ve 100'ün üzerinde kaspas

substratı tanımlanmış olup, bunlardan en az üçte biri apoptozis sürecinde rol alır²³¹⁻²³⁴. Kaspasların apoptotik sürecin merkezi öldürücüleri olduğu kabul edilir. Çünkü mutasyon yoluyla veya inhibitör özelliği taşıyan küçük moleküllerin kullanılması ile kaspasların inhibisyonu apoptoz sürecini yavaşlatabilir veya tamamen ortadan kaldırabilir²³³.

Mitokondriler yalnızca hücrelerin enerji santrali olmayıp, aynı zamanda da cephanelikleridir. Mitokondriler çok sayıda pro-apoptotik proteinleri barındırırlar. Bunlardan en önemlisi sitokrom c dir. Sitokrom c mitokondrial oksidatif fosforilasyonda rol alan bir protein olup, sitozol içerisine geçtiğinde de kaspas 9'un aktivatörü olarak görev yapar. Fakat sitokrom c nin mitokondri membranını nasıl geçtiği tam açıklanamamıştır. Ancak Bcl-2 diye isimlendirilen bir grup proteinin bu süreçte düzenleyici rol aldığı bilinmektedir²³⁵⁻²³⁷. Bcl-2 proteinleri mitokondri membranında yeni kanallar oluşturarak veya oluşmuş kanalları genişleterek yapısal değişikliklere neden olmaktadır. Bunun dışında Bcl-2 proteinleri diğer birçok proteinle etkileşime girer. Bu yolla da daha büyük deliklerin oluşumu için diğer mitokondri membran proteinlerinin toplanmasını sağlar. Bcl-2 ailesine dahil bazı proteinlerin mitokondrinin iç homeostazını da etkilemesi olasıdır. Bu modelde apoptotik uyarılar mitokondrial fizyolojiyi (iyon değişimi, oksidatif fosforilasyon) değiştirirler. Bunun sonucu mitokondri şişer ve membran yırtılır. Böylece sitozol içerisine membran proteinleri dağılır²³⁵.

Sitokrom c varlığı apoptotik hücre ölümü için hemen daima değişmez bir özelliktir. Ancak bazı olaylarda çok geç oluşan bir süreç olabilmektedir. Reseptör aracılığıyla gerçekleşen bazı apoptotik ölümler mitokondrial yolu baypas edebilmektedirler. Apoptoz süreci başladığında mitokondriden sadece sitokrom salgılanmaz, aynı anda AIF (çeşitli apoptotik olayda rol alan bir flavoprotein), Smac/DIABLO ve prokaspas 2, 3 ve 9'un da dahil olduğu bazı kaspaslar salgılanır^{235, 238}.

Apoptozis süreci başlayınca durdurulamayacağı kabul edilse de kaspasların farmakolojik inhibisyonu her zaman olmasa bile genellikle hücreleri apoptozdan kurtarır. Genetik olarak kaspas 3 ve 9 içermeyen farelerde nöronal apoptozun olmadığı gösterilmiştir. Bazı memeli türleri apoptozun inhibitör proteinleri (IAP) olarak bilinen, potansiyel olarak kaspas inhibitör özelliğine sahip proteinleri kodlayan genlere sahiptirler. Bunlar dışında apoptoz sürecinde birçok feedback mekanizması olayın akışını değiştirebilmektedir. Böylece hücreler ya tamamen apoptoz sonucu kaybedilmekte veya kendilerini bu süreçten kurtarabilmektedirler²³⁵. Çoklu domainli proapoptotik Bcl-2

benzeri proteinler Bax ve Bak gibi, caspas bağımsız hücre ölümünü uyarabilirken, birçok gen ürünü apoptozun baskılanmasında rol oynayabilir, antiapoptotik Bcl-2 ailesi üyeleri (Bcl-2 ve BclxL) gibi apoptoz inhibitörlerinin IAP ailesinin farklı üyelerini içeren, NF-kB tarafından düzenlenen salınım tanımlanmıştır²³⁹⁻²⁴¹.

2.6.2. Böbrek Hastalıklarında Apoptozis

Böbrek hasarlanmasında apoptozun tam rolü kesin olarak açıklanamamasına rağmen böbrek hastalıklarında apoptozun meydana geldiği gösterilmiştir. Hem böbrek hücrelerinin hem de olay yerine infiltre olmuş lökositlerde meydana gelen apoptozun renal hastalık patogeneze katkıda bulunabileceği ileri sürülmüştür²⁹⁻³⁵. Apoptoz iskemi, eksojen toksinler veya endojen mediatörler tarafından tetiklenebilmektedir. Apoptoz sadece böbrekte hasarlanmanın başlatılmasında değil olayın devamında da rol alabilmektedir. Proliferatif glomerülonefritte hipersellüleritenin çözülmesi veya akut böbrek yetmezliğinin düzelleme süreci artık hücrelerin apoptozu ile sonuçlanabilir. Böbrek hastalıklarının ilerlemesi glomerüller ve tübüler atrofi ile sonuçlanan böbrek parankim hücrelerinin yüksek oranda apoptozu sonucu meydana gelebilmektedir. Bunun tersine fibroblastlarda düşük apoptoz oranı ise fibrozisi artırıcı etki göstermektedir³⁵.

Böbrek hastalıklarının çoğunda temelde monosit/makrofaj ve T hücrelerinden ibaret mononükleer hücre infiltrasyonu karakteristiktir^{242,243}. Monosit/makrofajlar TNF- α , Fas ligand, serbest oksijen radikalleri ve nitrik oksit salgırlar. İnflamatuvar hücreler bu yolla apoptozu artırıcı faktörler olarak rol alırlar. Bunun dışında apoptoz inflamatuvar cevabı uyarır veya engelleyici rol oynar^{35, 244}. Genelde apoptozun inflamasyona neden olmadığına inanılır. Ancak çoğunlukla apoptozun ve inflamasyonun meydana gelişi birliktedir. TNF- α gibi bazı faktörler bir taraftan apoptozu başlatırken, diğer taraftan da lökositlerin toplanmasını uyaran kemotaktik faktörleri uyarır. Apoptozun kendisi apoptotik hücre lizisi ve proinflamatuvar sitokinlerin aktif salınımı yoluyla inflamasyonu başlatabilir^{35,243}. İnflamatuvar hücrelerin apoptoz yolu ile temizlenmesi inflamasyonun gerilemesine, yetersizliği ise inflamasyon sürecinin devamına katkıda bulunabilir. Bu fenomen *in vivo* şartlarda renal inflamasyonun çözüldüğü durumlarda gözlenmiştir²⁴⁵. Apoptotik lökositler mezengial hücreler gibi bölgesel hücreler tarafından fagosit edilirler. Böbrek hücreleri için gerekli yaşamsal faktörlerle lökositler için gerekli yaşamsal faktörler birbirinden

farklıdır^{245, 246}. Örneğin TNF- α lökositleri korurken böbrek hücrelerinin ölümüne neden olmaktadır. Böbrek hücreleri tarafından salgılanan TNF- α ve Fas ligand makrofaj ve T lenfositlerin daha uzun süre yaşamalarını sağlayarak böbrek hastalığının ilerlemesine katkıda bulunurlar^{35, 245, 247}.

Sağlam glomerüllerde hücre değişimi oldukça düşüktür. Sıçan glomerüllerinde % 0,01 oranında apoptotik hücrelerin bulunduğu gösterilmiştir²⁴⁷. İnsanlarda ise bu kesitlerde her 10 hücrede 0,03 olarak hesaplanmaktadır²⁴⁸. Gelişen böbrekte hücrelerin % 3-5'i apoptotiktir²⁴⁹. Böbreklerin hasarlanması sürecinde apoptoz glomerüler hücre ve lökositlerin kaybına katkıda bulunmaktadır²⁵⁰. Anti-Thy-1 nefritinde iyileşmenin karakteristik bulgusu olan mezengial proliferasyon mezengial hücrelerindeki apoptozun varlığına bağlıdır. Bu durumda apoptozun glomerülde %0,25 oranlarına çıktığı gözlenmiştir²⁴⁷. Sıçanlardaki nefrotoksik nefritlerde ve insanlardaki postinfeksiyöz glomerülonefritlerde nötrofil apoptozu daha ön plandadır^{246,248}. Anti-Thy-1 nefritinde apoptoz enjeksiyondan 12 saat sonra ortaya çıkabilmektedir. Kültüre mezengial hücrelerde anti-Thy-1'in apoptozu indüklemesi glomerüler hasarlanmada apoptozun rol aldığını göstermektedir. Artmış apoptoz büyüme hormonu transjenik sıçanlarda, adriamisin nefropatisinde^{251,252}, 5/6 nefrektomide ve kresentik antiglomerüler bazal membran antikorun neden olduğu nefritte de görülmektedir^{253,254}. 50–100 kat artmış apoptoz oranlarına IgA, lupus ve antinötrofil stoplazma antikorları (ANCA) pozitif vaskülit nefritleri gibi insan proliferatif nefritlerinde rastlanmaktadır^{248,255}. Bunun tersine nonproliferatif glomerülonefritlerden olan membranöz glomerülonefritte ise apoptoz oranlarında belirgin azalma meydana gelmektedir^{251, 255}. Glomerüler hasar sırasında hem glomerüler epiteliyal hücrelerde hem de endoteliyal hücrelerde apoptoz meydana gelmektedir³⁵.

Böbrekle uğraşan bilimsel kurumlar ve topluluklar yıllarca hemodinamik değişikliklerin tek başına glomerüler ve tübülointertisyel hasardan sorumlu olup olmadığını veya bu süreçte diğer mekanizmaların etkin olup olmadığını tartışmaktadırlar¹⁷. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda bazı böbrek hastalıklarının şiddetinin bir belirleyicisi olan proteinürinin bizzat kendisinin zararlı olduğu ortaya konmuştur¹⁸⁻²⁰. Bu bağlamda idrarda saptanan protein miktarı bazen orijinal hastalıktan daha fazla oranda son dönem böbrek yetmezliğine gidiş sürecini belirleyen en önemli faktör olarak karşımıza çıkmaktadır¹⁸. Proteinürideki artış inflamatuvar fenotip özelliği kazanmış proksimal tübülüs

hücreleri tarafından proteinin çok fazla miktarda hücre içerisine alınmasına ve nihayetinde ilerleyici renal intertisyum hasarına yol açarak böbrek hastalığının ilerlemesine neden olur¹⁹. Proteinüri proliferasyonla ve proksimal tubuler hücrelerin apoptozu ve interstisyel inflamasyon ile birlikte dir²⁵⁶⁻²⁵⁷.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Deneysel Çalışma

Bu çalışma Ekim 2006 ile Şubat 2006 tarihleri arasında yapıldı. Çalışma sağlıklı Wistar albino türü erkek sıçanlarda gerçekleştirildi. Çalışma 21 günlük süre sonunda sonlandırıldı. Kan, idrar örnekleri ile sıçanların böbrekleri çalışma protokolüne uygun şekilde alındıktan sonra sıçanlar feda edildi.

3.2. Deney Hayvanları

Çalışmaya ağırlıkları 200–250 gram, yaşları 3 – 3,5 ay (12–14 hafta) arasında, genç erişkin 60 tane Wistar albino türü sağlıklı erkek sıçan alındı. Sıçanlar rasgele dört gruba ayrıldı. Gruplar 15 adet sıçandan oluşturuldu. Tablo 4’de çalışmaya dahil edilen gruplardaki sıçanların özellikleri verilmiştir.

Grup I (sağlam kontrol grubu): Ağırlıkları median 207 gr (200 – 240 gr) olan 15 sıçandan oluştu. Bu gruptaki sıçanlara çalışmanın başlangıcında intraperitoneal 1 ml serum fizyolojik verildi. Sonrasında sonlandırılıncaya kadar 20 gün 1 ml serum fizyolojik orogastrik yolla verildi.

Grup II (nefrotik kontrol grubu): Ağırlıkları median 204 gr (200-235 gr) olan 15 sıçandan oluştu. Bu gruptaki sıçanlara deneysel nefrotik sendrom oluşturmak için daha önce yapılan pilot çalışmada belirlendiği gibi 10 mg/kg tek doz adriamisin intraperitoneal olarak enjekte edildi. Sonlandırmaya kadar her gün 1 ml serum fizyolojik orogastrik yolla verildi.

Grup III (erken tedavi grubu): Bu grupta da yine ağırlıkları median 207 gr (200–240 gr) olan 15 adet sıçan yer aldı. Sıçanlara çalışma başlangıcında nefrotik sendrom oluşturmak için 10 mg/kg tek doz adriamisin intraperitoneal verildi. Çalışma başlangıcından itibaren de tedavi amacıyla talidomid orogastrik yoldan 10 mg/kg/gün tek doz 20 günlük çalışma süresince her gün verildi.

Grup IV (geç tedavi grubu): Bu grupta yer alan 15 sıçanın ağırlığı median 205 gr (200–220 gr) idi. Sıçanlara başlangıçta nefrotik sendrom oluşturmak için 10 mg/kg/ tek doz adriamisin intraperitoneal verilirken. Tedavi amacıyla kullanılan talidomid 11. günden itibaren 10 mg/kg/gün orogastrik günlük tek doz şeklinde çalışma süresinin bitimine kadar 10 gün süre ile verildi.

Tablo 4. Çalışmaya alınan sıçanların çalışma gruplarına göre özellikleri

Grup	n	İlk Ağırlık (gr) Median	Aldığı İlaçlar
Grup I Sağlam Kontrol	15	207	-
Grup II Nefrotik Kontrol	15	204	Adriamisin
Grup III Erken Tedavi	15	207	Adriamisin-Talidomid*
Grup IV Geç Tedavi	15	205	Adriamisin-Talidomid**

* Başlangıçtan itibaren 20 gün süreyle Talidomid alan grup

** 11. günden itibaren 10 gün süreyle Talidomid alan grup

3.3. Yöntem

Çalışmaya başlamadan önce Çukurova Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi bünyesinde bulunan hayvan etik kurulundan çalışma için onay alındı. Çalışmaya alınan sıçanların öncelikle cinsiyetleri belirlendi. Erkek 60 sıçan çalışmaya dahil edildi. Sıçanlar rasgele dört gruba ayrıldı. Gruplar 15 sıçandan oluşturuldu. Sıçanların sağlıklı olduklarından emin olunduktan sonra ağırlıkları tartılıp standart numaralandırma sistemine göre her grup kendi içerisinde 1 den 15 e kadar numaralandırıldı.

Adriamisin hidroklorür steril distile su ile sulandırılarak kullanıldı. Talidomid ise üretici firmanın kullanım şartlarına göre günlük 100 mg'lık tablet 50 ml serum fizyolojik ile eritilerek kullanıldı.

Adriamisin ile oluşturulan NS'da proteinürinin 21. günde maksimuma ulaştığı bildirildiğinden çalışma süresi 21 gün olarak planlandı²⁵⁸. Gruplardaki bütün sıçanlar 12 saatlik aydınlık/karanlık periyodunda tutularak, standart sıçan yemi ve musluk suyu ile beslendiler. Sağlam kontrol grubuna (Grup I) tedavi verilmedi. NS oluşturmak için verilecek adriamisin dozu daha önce bölümümüzde Büyükçeklik ve ark. tarafından yapılan pilot ve tez çalışmasına göre seçildi²⁵⁹. Çalışma grubuna alınan sıçanlardan nefrotik kontrol grubuna (Grup II) deney başlangıcında 10 mg/kg tek doz intraperitoneal adriamisin verildi. Üçüncü ve dördüncü grup ise tedavi grupları olarak planlandı. Erken tedavi grubu (Grup III) sıçanlara başlangıçta aynı doz adrimisinin yanı sıra 20 gün boyunca günde tek doz 10 mg/kg/gün talidomid orogastrik yoldan verildi²⁶⁰. Geç tedavi grubu (Grup IV) sıçanlara ise başlangıçta 10 mg/kg tek doz adriamisin intraperitoneal yoldan verildi. Çalışmanın 11. gününden itibaren çalışmanın bitimine kadar 10 gün boyunca orogastrik yoldan günde tek doz 10 mg/kg/ talidomid verildi.

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

Sonlandırma işlemi için gerekli anestezi ketamin 40 mg/kg intraperitoneal verilerek sağlandı. Öncelikle sıçanlardan intrakardiyak 5 ml kan örneği alındı. Daha sonra sıçanların batını açılarak böbrekler çıkarıldı. Böbreklerin zarı soyulduktan sonra %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edilip, parafinize edildi. Patoloji laboratuvarında parafin bloklarda çalışılacağı güne kadar saklandı. Sıçanlar işlem sonrası kanamaya bırakılarak feda edildi.

Aynı gün kan örnekleri 5000/dk devirde 5 dakika santrifüj edilerek serum ayrıldı. Kan örneklerinde oto-analizör kullanılarak kan üre azotu (BUN), kreatinin, total protein, albümin, total kolesterol, trigliserit, AST ve ALT ve idrar örneğinde ise protein ve kreatinin değerleri ölçüldü. 24 saatlik idrar örneklerindende volüm, protein ve kreatinin değerleri ölçüldü. Serum ve idrar örnekleri -80°C'de depolanarak TNF- α ve IL-6 ölçümleri için saklandı. TNF- α düzeyleri ELISA yöntemi ile Biosource-USA rat TNF- α immunoassay kit (Katalog no: KRC3011) kullanılarak, IL-6 düzeyleri ELISA yöntemi ile Biosource-USA rat IL-6 immunoassay kit (Katalog no: KRC0061) kullanılarak ölçüldü.

Hazırlanan parafin doku bloklarından 3-4 mikron kalınlığında kesitler yapıldı. Yapılan kesitler deparafinize dildikten sonra Hematoksilen + Eozin (H+E), Periodic Asid Schiff (PAS) ve Apoptozis için peroksidaz boyama yöntemi ile boyanıp ışık mikroskobunda değerlendirildi²⁶¹.

Apoptozis İçin Peroksidaz Boyama Yöntemi

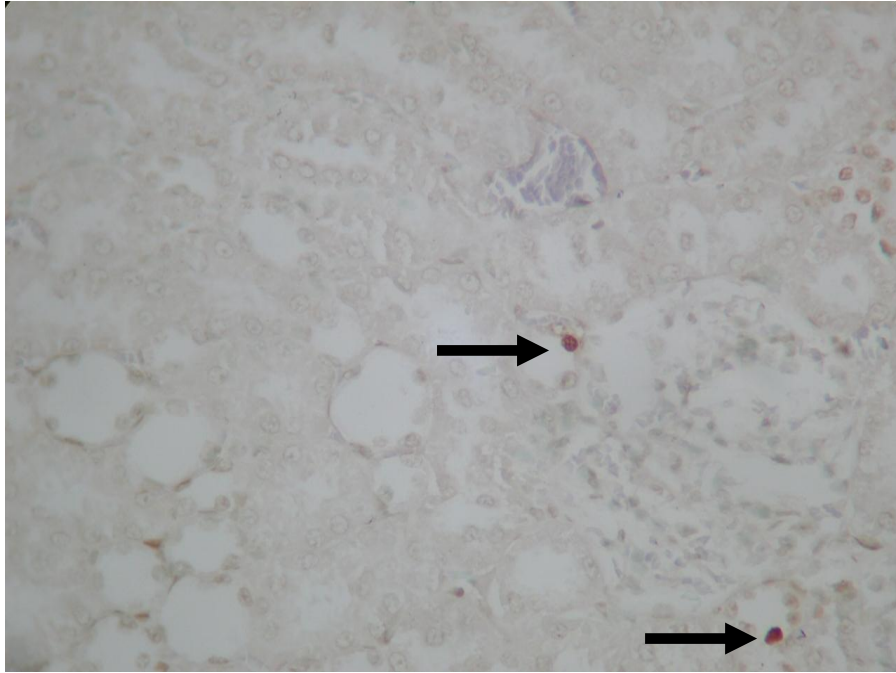
1. Deparafinize edilen dokulara taze hazırlanan Proteinase K (20 mikrogram/ml Oncor-Germany) solüsyonu her 5 cm²'ye yaklaşık 60 mikrolitre eklendi.
2. Daha sonra dokular her biri 2 dakika olmak üzere 2 defa distile su ile yıkandı.
3. Kesitler fosfat tamponlu tuzlu su (Phosphate Buffer Saline (PBS), pH 7.2) içine eklenmiş olan %3'lük hidrojen peroksit ile oda ısısında 5 dakika inkübe edildi. Burada amaç, endojen peroksit aktivitesini azaltmaktır.
4. Bu işlemden sonra dokular her biri beşer dakika olmak üzere iki kez PBS ile yıkandı.
5. Daha sonra kesitlere hızlı bir şekilde 75 µl equilibration buffer (Apoptag, Plus Peroxidase in situ apoptosis detection kit kod no: S7101) uygulandı ve oda ısısında 10 saniye bekletildi.
6. Dokuların etrafındaki fazla sıvı kurulandıktan sonra her 5cm²'ye 55 µl olacak şekilde TdT enzimi (Apoptag, Plus Peroxidase in situ apoptosis detection kit kod no: S7101) uygulandı ve 37 °C'de 1 saat süreyle inkübe edildi.
7. Daha sonra kesitler stop/wash buffer (Apoptag, Plus Peroxidase in situ apoptosis detection kit kod no: S7101) ile yıkandıktan sonra oda ısısında 10 dakika inkübe edildi.
8. Kesitler her biri birer dakika olmak üzere PBS ile 3 kez yıkandı ve kurulandı.
9. Dokulara oda ısısında her 5 cm²'ye 65 µl olacak şekilde anti-digoxigenin-Peroksidase conjugate (Apoptag, Plus Peroxidase in situ apoptosis detection kit kod no: S7101) eklenerek oda ısısında 30 dakika inkübe edildi.
10. Her biri iki dakika olmak üzere PBS ile dört kez yıkama yapıldı ve kurulandı.
11. Dokuların üzerini tamamen kapatacak kadar DAB (3,3' diaminobenzidine) substrate (Apoptag, Plus Peroxidase in situ apoptosis detection kit kod no: S7101) eklenerek mikroskopta bakıldı ve uygun boyanma olduğunda boyama işlemi tamamlandı.
12. Kesitler her biri 1 dakika olacak şekilde üç kez distile su ile yıkandı ve oda ısısında beş dakika inkübe edildi.
13. Daha sonra kesitlere zemin boyanması için metil green eklendi ve oda ısısında 10 dakika inkübe edildi.
14. Kesitler distile suya 2 kez 10 kere batırıldıktan sonra 30 saniye çalkalandı.
15. Ardından kesitler % 100'lük N-Bütanol içinde 2 kez 10 saniye süreyle ve 3. kez 30 saniye süreyle çalkalamadan bekletildi.

16. Preparatlar dehidrate etmek için 3 kez xylolden geçirildi.
17. Kesitlere lamel kapatıldı ve mikroskop altında incelendi.
18. Kesitler oda ısısında saklandı.

Boyayı tutan koyu kahverengi-siyah renkte küçülmüş çekirdekli hücreler apoptotik hücreler olarak kabul edildi. (Şekil 4). Tüm preparatların kendi negatif kontrolleri incelendi ve boya almadığı görüldü. 40 x 10 büyütmede tüm glomerüller değerlendirildi. Glomerül içermeyen 10 alandaki tubuluslarda apoptotik hücreler sayıldı, 10 alandaki toplam hücre sayısı kaydedildi. Değerlendirme konusunda uzman deneyimli patolog tarafından farklı zamanlarda iki ayrı sayımla yapıldı, iki sayımın ortalaması alındı.

3.4. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmede SPSS v 12.0 paketi kullanıldı. Öncelikle her grubun parametrelerinin dağılımının normal dağılıma uyup uymadığı Shapiro Wilks testi ile kontrol edildi. Tüm gruplarda en az bir normal dağılıma uymayan alt grup olduğu için değerlendirmede, nonparametric testlerden uygun olan Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Sonuçlar median (minimum-maksimum) değerler olarak verildi. Gruplararası önemlilik değerlendirmesinde Mann-Whitney *U* testi yanı sıra Bonferroni düzeltmesi ($p < 0,10/n$) kullanılarak p değeri $< 0,017$ ($p < 0,17$) istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



Şekil 4. Apoptotik hücrenin görünümü.

4. BULGULAR

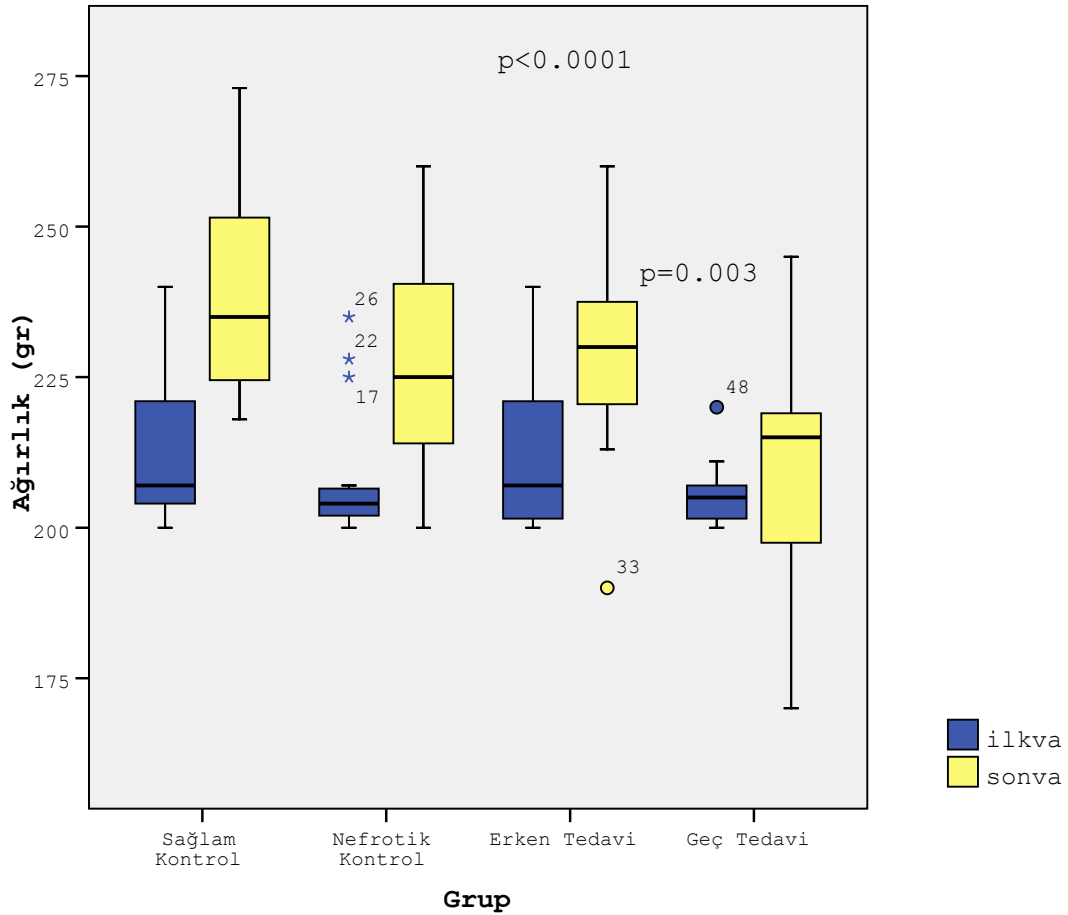
Çalışmaya dahil edilen sıçanların özellikleri, verilen ilaçlar (nefrotik sendrom oluşturmak ve oluşan nefrotik sendromu tedavi etmek için), çalışma bitiminde alınan kan ve idrar örneklerinde çalışılan biyokimyasal parametreler ve böbreklerden elde edilen doku örneklerinde sayılan apoptotik hücre sayıları median değerler ve minimum-maximum şeklinde tablolar halinde verildi. İstatistiksel olarak anlamlı bulunan median değerler ilgili tablonun altında ve şekillerin üzerinde p değerleri olarak ayrıca ifade edildi.

Cins: Her dört grupta da erkek Wistar albino türü sıçanlar kullanıldı.

Ağırlık: Tüm gruptaki sıçanlar çalışmaya alındıklarında (ilk ağırlık) ve sonlandırma gününde (son ağırlık) olmak üzere iki kez tartıldı. Tüm grupta yer alan sıçanların ağırlıkları Tablo 7 de görülmektedir. Sağlam kontrol grubunun ilk ağırlığı median 207 gr (200-240 gr), son ağırlığı median 235 gr (218-273 gr). Nefrotik kontrol grubunun ilk ağırlığı median 204 gr (200–235 gr), son ağırlığı median 225 gr (200–260 gr) bulundu. Erken tedavi grubunun ilk ağırlığı median 207 gr (200–240 gr), son ağırlığı median 230 gr (190–260 gr) bulundu. Geç tedavi grubunun ise ilk ağırlığı median 205 (200–220 gr), son ağırlığı median 215 gr (170–245 gr) bulundu. Grupların ilk ağırlık median değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,017$)(Tablo 5, Şekil 5). Grupların son ağırlık median değerleri değerlendirildiğinde sağlam kontrol ile nefrotik kontrol, sağlam kontrol ile erken tedavi, nefrotik kontrol ile erken tedavi, nefrotik kontrol ile geç tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,017$). Sağlam kontrol ile geç tedavi grubu ($p<0,0001$) ve erken ile geç tedavi grupları arasında ($p=0.003$) istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu.

Tablo 5. Gruplar arası ağırlık dağılımı

	Sağlam Kontrol		Nefrotik Kontrol		Erken Tedavi		Geç Tedavi	
Sıçan No	İlk Ağırlık (gr)	İlk Ağırlık (gr)	İlk Ağırlık (gr)	Son Ağırlık (gr)	İlk Ağırlık (gr)	Son Ağırlık (gr)	İlk Ağırlık (gr)	Son Ağırlık (gr)
1	207	218	200	221	202	220	206	217
2	227	273	225	242	210	239	211	230
3	222	253	206	200	222	190	220	219
4	208	245	203	214	228	230	200	200
5	207	225	207	239	200	215	206	219
6	240	265	201	225	205	243	200	215
7	204	222	228	260	201	213	203	205
8	220	242	204	257	201	234	206	215
9	228	253	200	225	209	236	202	173
10	200	220	204	230	205	225	200	180
11	207	234	235	252	207	230	208	170
12	204	235	204	214	240	221	205	224
13	207	250	202	216	226	231	201	195
14	203	225	202	203	220	250	204	209
15	201	224	202	210	200	260	210	245
Median	207	235	204	225	207	230	205	215

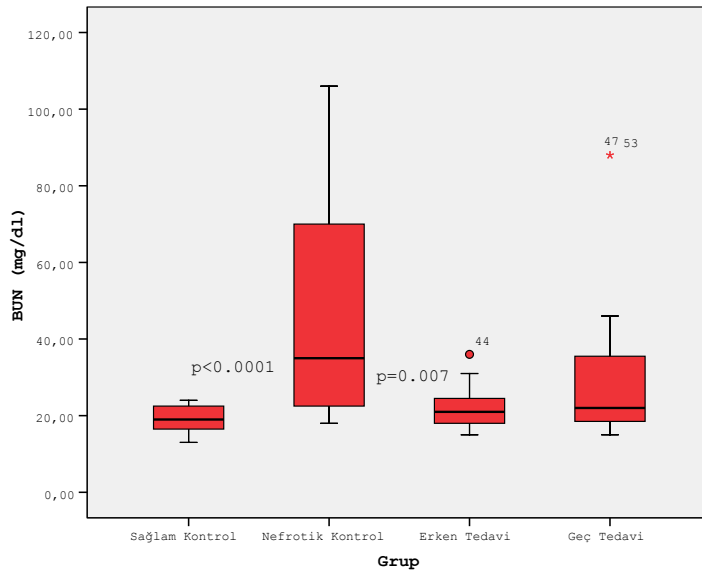
**Şekil 5. Grupların ilk ve son ağırlıklarının dağılımı**

Kan üre azotu : Kan üre azotu (BUN) median değerleri sağlam kontrol grubunda 19 mg/dl (13–24 mg/dl), nefrotik kontrol grubunda 35 mg/dl (18–106 mg/dl), erken tedavi grubunda 21 mg/dl (15–36 mg/dl) ve geç tedavi grubunda 21 mg/dl (10–88 mg/dl) bulundu. Grupların BUN median değerleri sağlam kontrol ve nefrotik kontrol grubu arasında ($p<0,0001$) ve nefrotik kontrol ile erken tedavi grubu arasında ($p=0,007$) istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu diğer gruplar arasında anlamlı fark yoktu ($p>0,017$)(Tablo 6, Şekil 6).

Tablo 6. Gruplar arası kan üre azotu değerlerinin dağılımı ve median değerleri

Sıçan No	Sağlam Kontrol BUN (mg/dl)	Nefrotik Kontrol BUN (mg/dl)	Erken Tedavi BUN (mg/dl)	Geç Tedavi BUN (mg/dl)
1	23	22	26	18
2	16	63	15	88
3	16	23	31	27
4	19	18	22	46
5	20	56	21	39
6	20	106	21	19
7	22	77	27	19
8	24	23	16	88
9	19	44	20	15
10	23	77	17	10
11	17	22	16	16
12	17	35	22	21
13	23	18	19	22
14	14	104	36	23
15	13	24	23	32
Median	19 ^a	35 ^b	21 ^c	21 ^d

a-b, $p<0.0001$ ve b-c, $p=0.007$

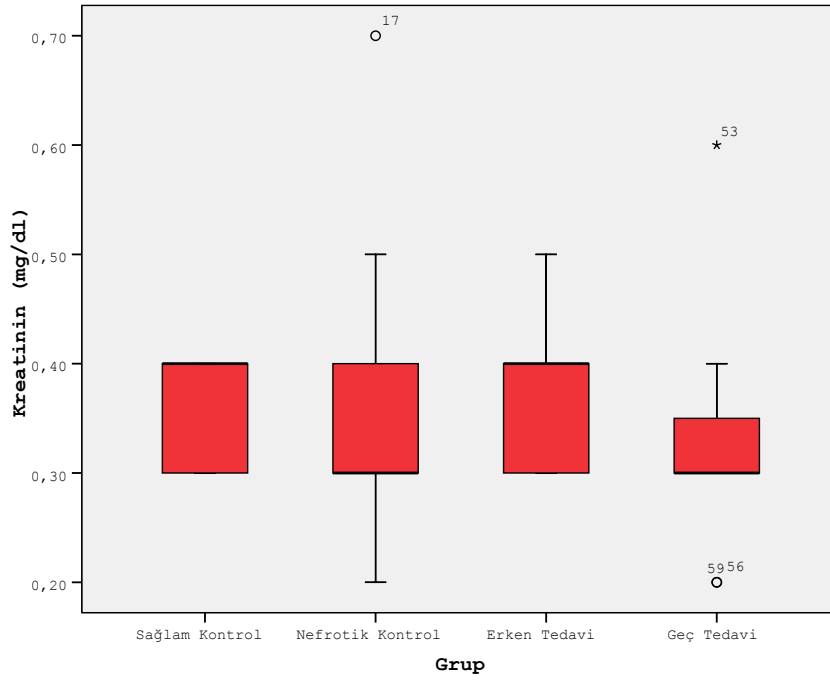


Şekil 6. Gruplara göre serum kan üre azotu değerlerinin (mg/dl) dağılımı

Serum kreatinini: Serum kreatinin median değeri sağlam kontrol grubunda 0,4 mg/dl (0,3–0,4 mg/dl), nefrotik kontrol grubunda 0,3 mg/dl (0,2–0,7 mg/dl), erken tedavi grubunda 0,4 mg/dl (0,3–0,5 mg/dl), geç tedavi grubunda 0,3 mg/dl (0,2–0,6 mg/dl) bulundu. Kreatinin değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p > 0,017$)(Tablo 7, Şekil 7).

Tablo 7. Gruplar arası serum kreatinin değerlerinin dağılımı ve median değerleri

Sıçan No	Sağlam Kontrol kreatinin (mg/dl)	Nefrotik Kontrol kreatinin (mg/dl)	Erken Tedavi kreatinin (mg/dl)	Geç Tedavi kreatinin (mg/dl)
1	0,40	0,30	0,30	0,40
2	0,40	0,70	0,40	0,30
3	0,30	0,30	0,50	0,30
4	0,40	0,30	0,50	0,30
5	0,30	0,40	0,30	0,30
6	0,30	0,50	0,40	0,30
7	0,30	0,40	0,40	0,40
8	0,40	0,30	0,40	0,60
9	0,40	0,30	0,40	0,30
10	0,40	0,30	0,30	0,30
11	0,30	0,30	0,40	0,20
12	0,30	0,30	0,30	0,30
13	0,40	0,20	0,50	0,40
14	0,30	0,50	0,30	0,20
15	0,40	0,20	0,40	0,30
Median	0,40	0,30	0,40	0,30



Şekil 7. Gruplara göre serum kreatinin değerlerinin (mg/dl) dağılımı

Serum total protein: Serum total protein median değerleri sağlam kontrol grubunda 6,3 gr/dl (5,7–6,8 gr/dl), nefrotik kontrol grubunda 4,8 gr/dl (4,0–6,1 gr/dl), erken tedavi grubunda 6,7 gr/dl (4,6–7,3 gr/dl), geç tedavi grubunda 4,7 gr/dl (2,7–6,7 gr/dl) bulundu. Sağlam kontrol ile nefrotik kontrol ve geç tedavi grupları karşılaştırıldığında serum total protein median değeri nefrotik kontrol ve geç tedavi gruplarında belirgin derecede düşüktü ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,0001$, $p=0,001$). Erken tedavi grubu ile geç tedavi ve nefrotik kontrol grupları karşılaştırıldığında total protein değerleri geç tedavi ve nefrotik kontrol gruplarında belirgin olarak düşüktü ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0,001$, $p<0,0001$). Geç tedavi grubu ile nefrotik kontrol grubu ve sağlam kontrol ile erken tedavi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0,305$ ve $p=0,838$) (Tablo 8, Şekil 8).

Tablo 8. Gruplar arasında serum total protein değerlerinin dağılımı ve median değerleri

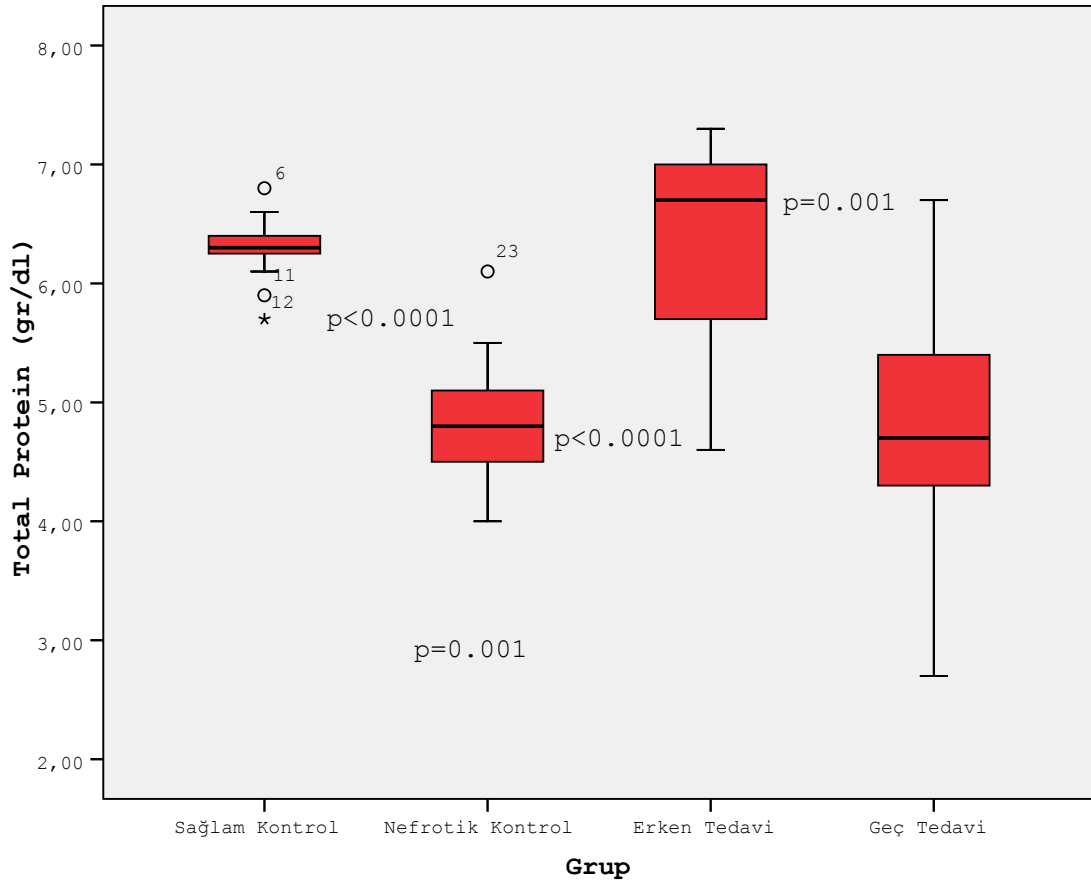
Sıçan No	Sağlam Kontrol Total protein (gr/dl)	Nefrotik Kontrol Total protein (gr/dl)	Erken Tedavi Total protein (gr/dl)	Geç Tedavi Total protein (gr/dl)
1	6,40	4,70	4,70	6,70
2	6,30	4,20	7,00	4,20
3	6,20	5,10	5,50	4,70
4	6,30	5,40	7,20	4,40
5	6,40	4,50	5,90	4,40
6	6,80	4,40	7,00	6,50
7	6,30	4,70	6,70	5,80
8	6,40	6,10	6,20	4,20
9	6,40	4,80	6,70	5,00
10	6,60	4,00	4,90	5,00
11	5,90	5,50	7,00	2,70
12	5,70	4,50	6,80	6,40
13	6,30	5,10	7,20	4,90
14	6,40	4,90	4,60	4,50
15	6,10	4,90	7,30	4,20
Median	6,30 ^a	4,80 ^b	6,70 ^c	4,70 ^d

a-b:p<0,0001

b-c:p<0,0001

a-d:p=0,001

c-d:p=0,001



Şekil 8. Gruplara göre serum total protein değerlerinin (gr/dl) dağılımı

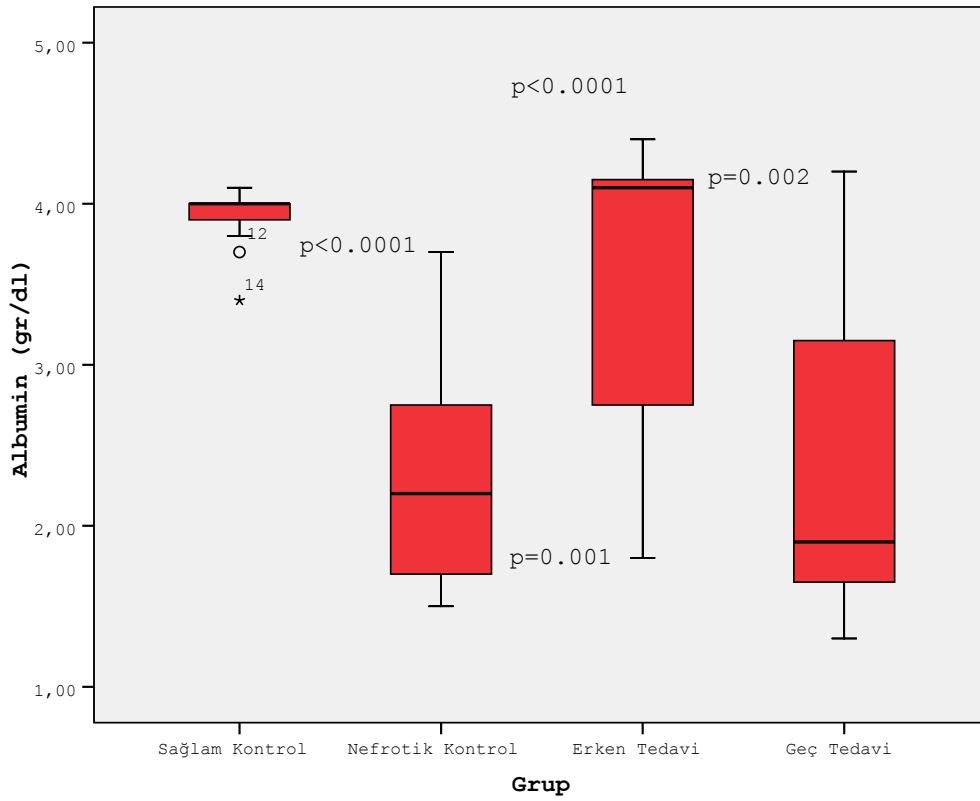
Serum albümini: Serum albümin median değerleri sağlam kontrol grubunda 4,0 gr/dl (3,4–4,1 gr/dl), nefrotik kontrol grubunda 2,2 gr/dl (1,5–3,7 gr/dl), erken tedavi grubunda 4,1 gr/dl (1,8–4,4 gr/dl), geç tedavi grubunda 1,9 gr/dl (1,3–4,2 gr/dl) bulundu. Sağlam kontrol grubu ile nefrotik kontrol ve geç tedavi grubu karşılaştırıldığında serum albüminin median değeri nefrotik kontrol ve geç tedavi grubunda belirgin derecede düşüktü ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,0001$). Nefrotik kontrol grubu ile erken tedavi grubu karşılaştırıldığında nefrotik kontrol grubunda serum albümin median değeri belirgin olarak düşüktü ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0,001$). Tedavi grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında ise erken tedavi grubunun serum albümin median değeri geç tedavi grubunun değerlerinden belirgin olarak yüksekti ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,002$). Nefrotik kontrol grubu ile geç tedavi grubu ve sağlam kontrol grubu ile erken tedavi grubu arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunamadı ($p=0,653$ ve $p=0,838$)(Tablo 9, Şekil 9).

Tablo 9. Gruplar arası serum albümin değerlerinin dağılımı ve median değerleri

Sıçan No	Sağlam Kontrol serum albümini (gr/dl)	Nefrotik Kontrol serum albümini (gr/dl)	Erken Tedavi serum albümini (gr/dl)	Geç Tedavi serum albümini (gr/dl)
1	4,0	2,6	2,0	4,2
2	4,1	1,5	4,4	1,5
3	3,9	2,8	2,3	2,1
4	4,0	2,6	4,2	1,6
5	4,1	1,7	3,1	1,9
6	4,1	1,7	4,1	3,0
7	3,8	1,7	4,1	3,5
8	3,9	3,7	2,9	1,4
9	4,0	1,7	4,0	1,7
10	4,0	1,5	2,6	2,0
11	4,0	3,3	4,1	1,3
12	3,7	2,1	4,1	3,8
13	3,9	2,7	4,3	3,3
14	3,4	3,0	1,8	1,9
15	3,9	2,2	4,2	1,8
Median	4,0 ^a	2,2 ^b	4,1 ^c	1,9 ^d

a-b: $p<0,0001$
a-d: $p<0,0001$

b-c: $p=0,001$
c-d: $p=0,002$



Şekil 9. Gruplara göre serum albümin değerlerinin (gr/dl) dağılımı

Total Kolesterol: Total kolesterol median değeri sağlam kontrol grubunda 58 mg/dl (43-68 mg/dl), nefrotik kontrol grubunda 218 mg/dl (53-414 mg/dl), erken tedavi grubunda 59 mg/dl (48-310 mg/dl), geç tedavi grubunda 234 mg/dl (45-297 mg/dl) bulundu. Sağlam kontrol grubuna göre nefrotik kontrol grubu ve geç tedavi grubunun serum total kolesterol değerleri belirgin yüksek (sırası ile $p<0,0001$ ve $p=0,003$), erken tedavi grubuna göre nefrotik kontrol grubunun serum total kolesterol değerleri belirgin yüksek ($p=0,001$), geç tedavi grubunun değerleri yüksek ama istatistiksel olarak anlamlı değil ($p=0,061$) iken sağlam kontrol grubu ile erken tedavi grubu arasında ve nefrotik kontrol grubu ile geç tedavi grubu arasında fark bulunamadı (sırası ile $p=0,412$ ve $p=0,305$). (Tablo 10, Şekil 10).

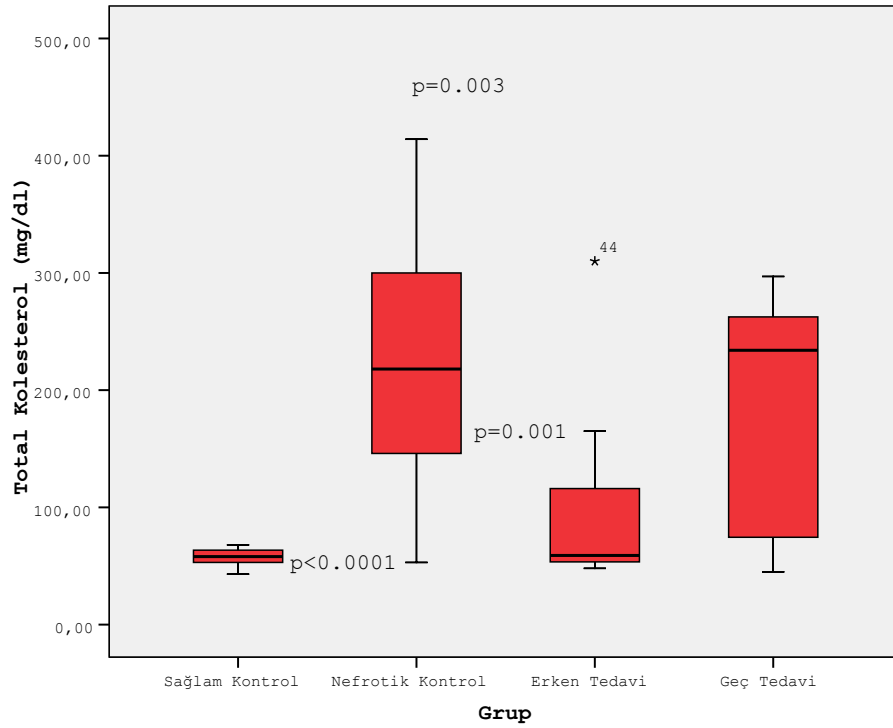
Tablo 10. Gruplar arası serum total kolesterol değerlerinin dağılımı ve median değerleri

Sıçan No	Sağlam Kontrol Serum total kolesterol (mg/dl)	Nefrotik Kontrol Serum total kolesterol (mg/dl)	Erken Tedavi Serum total kolesterol (mg/dl)	Geç Tedavi Serum total kolesterol (mg/dl)
1	53	113	165	64
2	53	218	59	270
3	58	157	123	297
4	50	176	48	240
5	68	307	109	263
6	67	331	48	45
7	53	299	53	92
8	65	53	61	291
9	55	414	54	243
10	60	301	145	164
11	62	135	59	85
12	44	246	59	49
13	61	167	55	48
14	43	80	310	234
15	65	233	52	262
Median	58 ^a	218 ^b	59 ^c	234 ^d

a-b:p<0,0001

a-c:p=0,003

b-c:p=0,001



Şekil 10. Gruplara göre serum total kolesterol değerlerinin (mg/dl) dağımı

Trigliserit: Serum trigliserit median değeri sağlam kontrol grubunda 43 mg/dl (32-91 mg/dl), nefrotik kontrol grubunda 395 mg/dl (88-1189 mg/dl), erken tedavi grubunda 82 mg/dl (33-639 mg/dl) ve geç tedavi grubunda 131 mg/dl (36-574 mg/dl) bulundu. Sağlam kontrol grubuna göre nefrotik kontrol grubu, erken tedavi grubu ve geç tedavi grubunun serum trigliserid değerleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek (sırası ile $p<0,0001$, $p<0,0001$ ve $p=0,001$), erken tedavi grubuna göre nefrotik kontrol grubunun serum total kolesterol değerleri belirgin yüksek ($p=0,015$), geç tedavi grubu ile nefrotik kontrol ve erken tedavi grubu arasında anlamlı fark bulunamadı (sırası ile $p=0,050$ ve $p=0,838$). (Tablo11, Şekil 11).

Tablo 11. Gruplar arası serum trigliserit değerlerinin dağılımı ve median değerleri

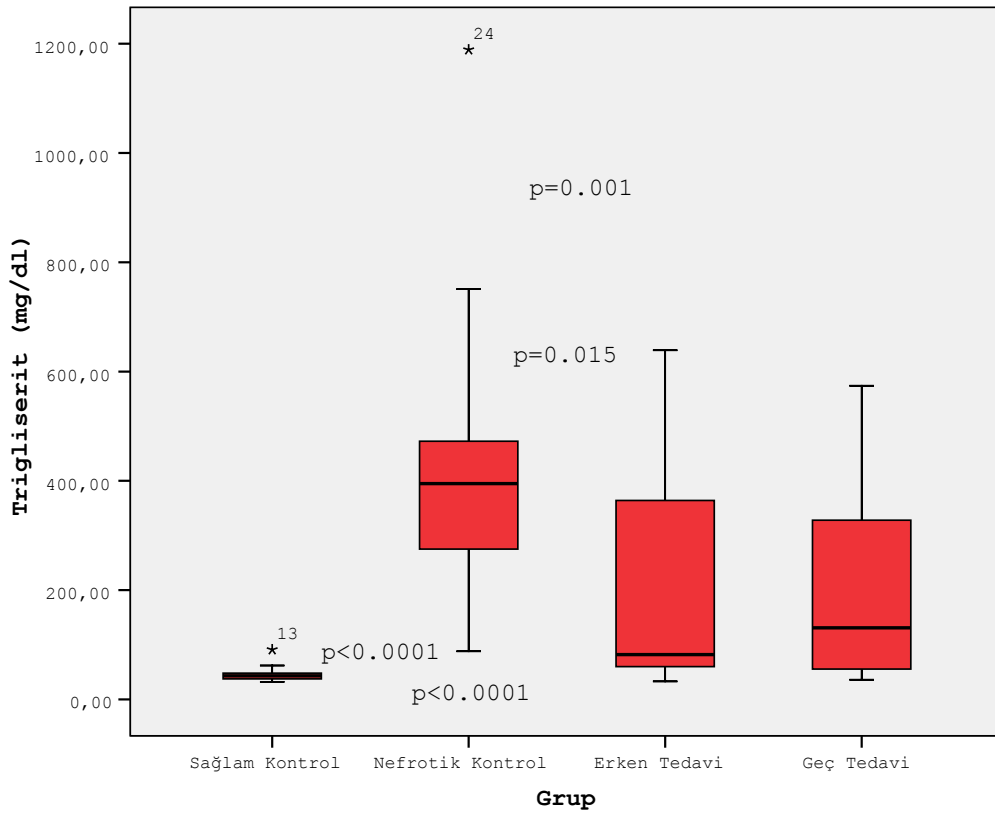
Sıçan No	Sağlam Kontrol serum trigliserit (mg/dl)	Nefrotik Kontrol serum trigliserit (mg/dl)	Erken Tedavi serum trigliserit (mg/dl)	Geç Tedavi Serum trigliserit (mg/dl)
1	47	332	500	47
2	34	113	67	148
3	32	480	362	574
4	39	322	58	251
5	41	466	366	530
6	46	395	65	37
7	34	751	54	45
8	36	88	82	113
9	43	1189	84	138
10	41	109	587	131
11	60	398	62	112
12	62	479	51	36
13	91	431	33	64
14	46	228	639	535
15	49	379	121	405
Median	43 ^a	395 ^b	82 ^c	131 ^d

a-b: $p<0,0001$

a-c: $p<0,0001$

a-d: $p=0,001$

b-c: $p=0,015$

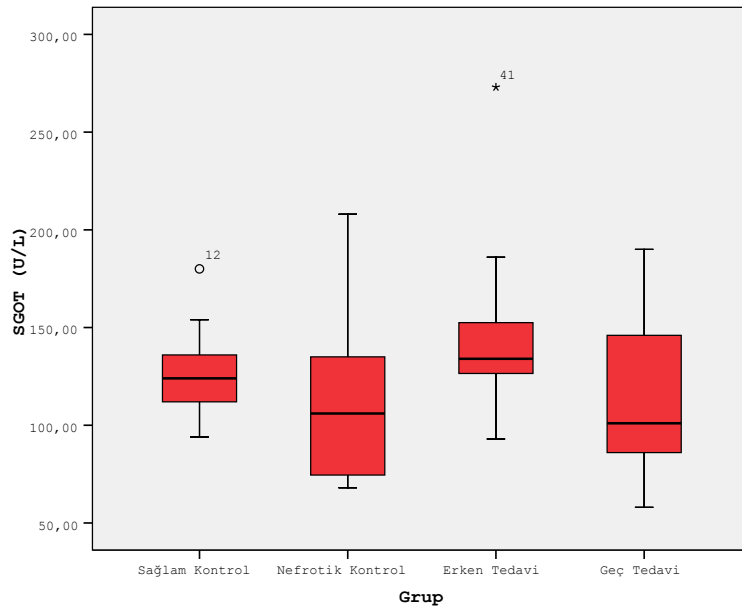


Şekil 11. Gruplara göre serum trigliserit değerlerinin (mg/dl) dağılımı

Karaciğer enzimleri Aspartat Amino Transferaz: Aspartat Amino Transferaz (AST) median değeri sağlam kontrol grubunda 124 U/L (94–180 U/L), nefrotik kontrol grubunda 106 U/L (68–491 U/L), erken tedavi grubunda 134 U/L (93–317 U/L) ve geç tedavi grubunda 101 U/L (58–328 U/L) bulundu. Sağlam kontrol ,nefrotik kontrol grubu ve tedavi grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında AST median değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0,017$) (Tablo 12, Şekil 12).

Tablo 12. Gruplar arası serum aspartat amino transferaz değerlerinin dağılımı ve median değerleri

Sıçan No	Sağlam Kontrol AST (IU/L)	Nefrotik Kontrol AST (IU/L)	Erken Tedavi AST (IU/L)	Geç Tedavi AST (IU/L)
1	154	106	317	106
2	106	90	186	90
3	97	71	133	71
4	94	137	148	137
5	113	182	142	182
6	148	75	110	75
7	117	109	145	109
8	134	133	128	133
9	124	70	134	70
10	111	131	128	131
11	135	68	273	68
12	180	74	112	74
13	114	97	157	97
14	137	491	93	491
15	129	208	125	208
Median	124	106	134	101



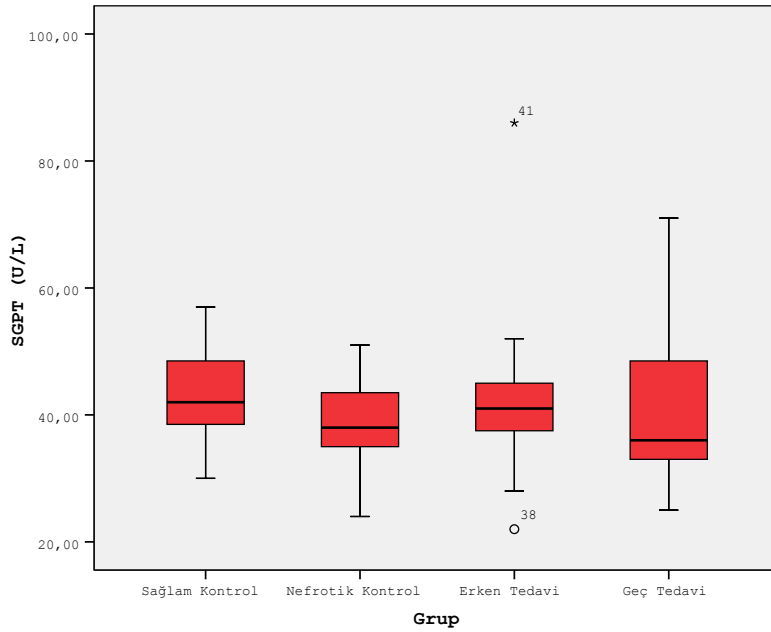
Şekil 12. Gruplara göre serum aspartat amino transferaz değerlerinin (U/L) dağılımı

Serum Alanin Amino Transferaz: Alanin Amino Transferaz (ALT) median değeri sağlam kontrol grubunda 42 IU/L (30–57 U/L), nefrotik kontrol grubunda 38 U/L (24–233 U/L), erken tedavi grubunda 41 U/L (22–86 U/L) ve geç tedavi grubunda 36 U/L (25–71 U/L) bulundu. Kontrol grupları ve tedavi grupları kendi aralarından

karşılaştırıldığında ALT median değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,017$). (Tablo 13, Şekil 13).

Tablo 13. Gruplar arası serum alanin amino transferaz değerlerinin dağılımı ve median değerleri

Sıçan No	Sağlam Kontrol ALT (U/L)	Nefrotik Kontrol ALT (U/L)	Erken Tedavi ALT (U/L)	Geç Tedavi ALT (U/L)
1	49	29	40	53
2	30	36	41	58
3	32	35	28	36
4	44	38	46	40
5	38	35	39	35
6	39	35	43	36
7	51	42	44	25
8	43	45	22	45
9	48	38	37	25
10	42	51	38	33
11	34	24	86	36
12	57	35	43	52
13	57	42	52	71
14	41	233	37	33
15	42	46	47	30
Median	42	38	41	36



Şekil 13. Gruplara göre serum alanin amino transferaz değerlerinin (U/L) dağılımı

İdrar proteini (mg/dl): İdrar protein median değeri sağlam kontrol grubunda 58,1 mg/dl (20,2–131,4 mg/dl), nefrotik kontrol grubunda 1404,2 mgr/dl (200–4066 mg/dl),

erken tedavi grubunda 136 mg/dl (20–3410,9 mg/dl) ve geç tedavi grubunda 259 mgr/dl (10–3610,1 mg/dl) bulundu. (Tablo 14).

İdrar kreatinin: İdrar kreatinin median değeri sağlam kontrol grubunda 50,1 mgr/dl (21,9–69,5 mg/dl), nefrotik kontrol grubunda 85 mg/dl (28,7–315,6 mg/dl), erken tedavi grubunda 69,3 mg/dl (30–157,1 mg/dl) ve geç tedavi grubunda 43,8 mg/dl (20,9–218,9 mg/dl) bulundu. (Tablo 14).

İdrar volümü: 24 saatlik idrar volümü median değeri sağlam kontrol grubunda 11 ml (8–24 ml), nefrotik kontrol grubunda 7 ml (1–19 ml), erken tedavi grubunda 9 ml (3–24 ml) ve geç tedavi grubunda 7 ml (5,5–20 ml) bulundu. (Tablo 14).

İdrar proteini (mg/gün): İdrar protein median değeri sağlam kontrol grubunda 7,04 mg/gün (2,83–15,77 mg/gün), nefrotik kontrol grubunda 128,96 mgr/gün (8,75–334,39 mg/gün), erken tedavi grubunda 8,4 mg/gün (4,4–141,2 mg/gün) ve geç tedavi grubunda 25,9 mgr/gün (1,8–216,61 mg/gün) bulundu. Nefrotik kontrol grubu ile sağlam kontrol grubu ve erken tedavi grubu karşılaştırıldığında idrar protein median değerleri nefrotik kontrol grubunda belirgin derecede yüksek ve aralarında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (sırası ile $p<0,001$, $p=0,002$). Sağlam kontrol grubu ile erken ve geç tedavi grubu, nefrotik kontrol grubu ile geç tedavi grubu ve tedavi grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında da idrar protein median değerleri sağlam kontrol grubunda düşüktü, fakat aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,017$). (Tablo 15, Şekil 14)

Tablo 14 : Gruplar arası idrar proteini (mg/dl), idrar kreatinin (mg/dl) ve idrar volümü (ml/gün) değerlerinin dağılımı ve median değerleri

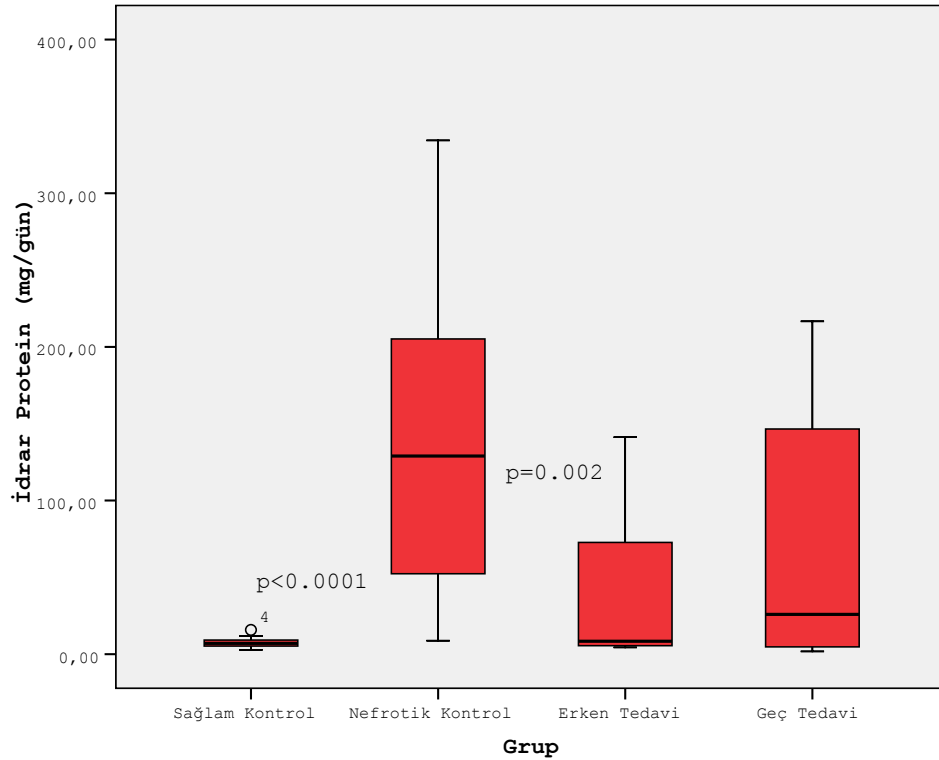
Sıçan No	Sağlam Kontrol			Nefrotik Kontrol			Erken Tedavi			Geç Tedavi		
	İdrar Proteini (mg/dl)	İdrar Kreatinini (mg/dl)	İdrar Volümü (ml/gün)	İdrar Proteini (mg/dl)	İdrar Kreatinini (mg/dl)	İdrar Volümü (ml/gün)	İdrar Proteini (mg/dl)	İdrar Kreatinini (mg/dl)	İdrar Volümü (ml)	İdrar Proteini (mg/dl)	İdrar Kreatinini (mg/dl)	İdrar Volümü (ml)
1	58,1	55,70	9,5	1251,4	73,3	5,0	3410,9	120,7	3,5	25	41,0	19,0
2	39,5	38,70	18,0	1412	28,7	11,0	136	88,7	6,0	54,3	218,9	7,0
3	84	51,60	14,0	1369,1	56,6	7,0	1412	65,7	10,0	33,6	211,0	14,0
4	131,4	54,10	12,0	2101	40,4	7,0	40	70,0	11,0	3029	67,2	6,0
5	88	44,50	8,0	1380	64,1	15,0	931,2	65,7	8,0	2516,3	41,3	6,0
6	77,3	50,10	14,0	2388,5	288,2	14,0	35	34,6	16,0	10	20,9	18,0
7	40,4	37,60	16,0	1336	92,5	19,0	105	69,3	8,0	93	41,0	8,0
8	89,2	59,60	10,0	200	85,0	7,0	2365,1	145,2	3,0	1789	43,8	7,0
9	118,3	69,50	8,0	1404,2	226,3	3,0	209	98,1	7,0	2474,2	27,2	6,0
10	41,2	43,30	11,0	2030,3	67,5	5,0	604,7	157,1	4,0	259	46,2	10,0
11	41,9	45,70	10,0	4066	89,1	5,0	20	30,0	24,0	734	21,4	11,0
12	95,1	51,50	9,0	437,5	131,4	2,0	45	38,5	12,0	119	64,2	5,5
13	50,6	61,20	10,0	1321	202,4	16,0	34	42,5	15,0	67	51,7	7,0
14	22,7	21,90	24,0	1586,9	315,6	1,0	1350	77,2	9,0	723	25,1	20,0
15	20,2	32,00	14,0	1612	37,3	8,0	36	43,5	20,0	3610,1	82,8	6,0
Median	58,1	50,1	11,0	1404,2	85,0	7,0	136	69,3	9,0	259	43,8	7,0

Tablo 15. Gruplar arası idrar protein değerlerinin dağılımı ve median değerleri

Sıçan No	Sağlam Kontrol idrar proteini (mg/gün)	Nefrotik Kontrol idrar proteini (mg/gün)	Erken Tedavi idrar proteini (mg/gün)	Geç Tedavi İdrar proteini (mg/gün)
1	5,52	62,57	119,38	4,75
2	7,11	155,32	8,16	3,80
3	11,76	95,84	141,20	4,70
4	15,77	147,07	4,40	181,74
5	7,04	207,00	74,50	150,98
6	10,82	334,39	5,60	1,80
7	6,46	253,84	8,40	7,44
8	8,92	14,00	70,95	125,23
9	9,46	42,13	14,63	148,45
10	4,53	101,52	24,19	25,90
11	4,19	203,30	4,80	80,74
12	8,56	8,75	5,40	6,55
13	5,06	211,36	5,10	4,69
14	5,45	15,87	121,50	144,60
15	2,83	128,96	7,20	216,61
Median	7,04 ^a	128,96 ^b	8,4 ^c	25,9 ^d

a-b:p<0.0001

b-c:p=0.002



Şekil 14. Gruplara göre idrar protein değerlerinin (mg/gün) dağılımı

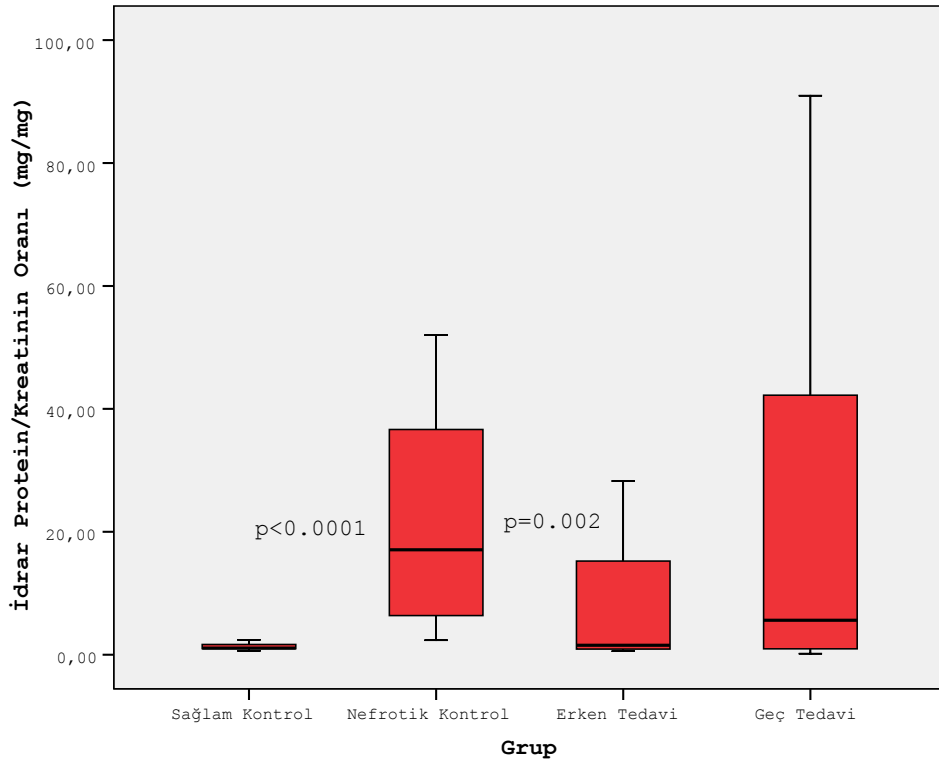
İdrar protein/kreatinin oranı: İdrar protein/kreatinin oranı median sağlam kontrol grubunda 1,1 mg/mg (0,63–2,43 mg/mg), nefrotik kontrol grubunda 17,1 mg/mg (2,35–52,0 mg/mg), erken tedavi grubunda 1,5 mg/mg (0,57–28,2 mg/mg) ve geç tedavi grubunda 5,6 mg/mg (0,15–90,95 mg/mg) bulundu. Nefrotik kontrol grubu ile sağlam kontrol grubu ve erken tedavi grubu karşılaştırıldığında nefrotik kontrol grubunda idrar protein/kreatinin oranı sağlam kontrol grubu ve erken tedavi grubundan belirgin derecede yüksek bulundu ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı (sırası ile $p<0,0001$, $p=0,002$). Sağlam kontrol, nefrotik kontrol grupları ile geç tedavi grubu ve tedavi grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0,017$). (Tablo 16, Şekil 15).

Tablo 16. Gruplar arası idrar protein/kreatinin değerlerinin dağılımı ve median değerler

Sıçan No	Sağlam Kontrol idrar protein/kreatinin (mg/mg)	Nefrotik Kontrol idrar protein/kreatinin (mg/mg)	Erken Tedavi idrar protein/kreatinin (mg/mg)	Geç Tedavi idrar protein/kreatinin (mg/mg)
1	1,04	17,03	28,25	0,60
2	1,02	49,19	1,53	0,21
3	1,63	24,18	21,40	0,15
4	2,43	52,00	0,57	45,00
5	1,98	21,52	14,17	60,92
6	1,54	8,28	1,01	0,47
7	1,07	14,44	1,51	2,26
8	1,50	2,35	16,28	40,84
9	1,70	6,20	2,13	90,95
10	0,95	30,00	3,84	5,60
11	0,92	45,63	0,66	34,29
12	1,85	3,32	1,16	1,85
13	0,83	6,52	0,80	1,29
14	1,04	5,02	17,48	28,80
15	0,63	43,21	0,82	43,60
Median	1,1 ^a	17,0 ^b	1,5 ^c	5,6 ^d

a-b: $p<0,001$

b-c: $p=0,002$

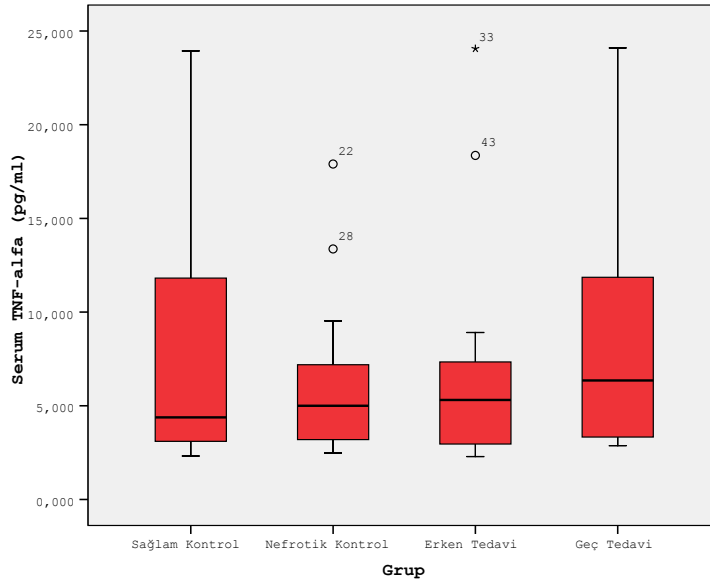


Şekil 15. Gruplara göre idrar protein/kreatinin oranlarının (mg/mg) dağılımı

Serum Tümör Nekrozis Faktör- α değeri: Serum Tümör Nekrozis Faktör- α (TNF- α) median değeri sağlam kontrol grubunda 4,38 pg/ml (2,3-23,94 pg/ml), nefrotik kontrol grubunda 5,0 pg/ml (2,48-17,9 pg/ml), erken tedavi grubunda 5,31 pg/ml (2,29-24,1) pg/ml ve geç tedavi grubunda 7,2 pg/ml (2,87-24,1 pg/ml) bulundu. Gruplar arasında serum TNF- α değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,017$) (Tablo 17, Şekil 16).

Tablo 17. Gruplar arası serum tümör nekrozis faktör- α değerlerinin dağılımı ve median değerleri

Sıçan No	Sağlam Kontrol Serum TNF- α (pg/ml)	Nefrotik Kontrol Serum TNF- α (pg/ml)	Erken Teadavi Serum TNF- α (pg/ml)	Geç Tedavi Serum TNF- α (pg/ml)
1	4,38	3,45	3,6	8,87
2	2,67	2,94	2,71	20,38
3	2,32	2,83	24,1	9,3
4	4,11	2,48	7,24	19,7
5	9,72	6,55	7,44	4,11
6	6,04	5,54	2,29	3,33
7	11,93	17,9	8,91	2,98
8	2,52	9,53	3,1	7,24
9	2,87	3,87	2,98	14,41
10	3,33	7,83	2,94	3,33
11	23,9	4,38	2,91	4,38
12	11,7	5,5	5,31	2,87
13	4,07	13,37	18,36	6,35
14	23,9	5,0	6,39	3,33
15	23,9	2,87	6,66	24,1
Median	4,38	5,0	5,31	6,35



Şekil 16. Gruplara göre serum tümör nekrozis- α (pg/ml) değerlerinin dağılımı

Serum İnterlökin-6 değeri: Serum interlökin-6 (IL-6) median değeri sağlam kontrol grubunda 5,83 pg/ml (4,8-9,4 pg/ml), nefrotik kontrol grubunda 7,64 pg/ml (5,94-13,58 pg/ml), erken tedavi grubunda 7,64 pg/ml (6,73-10,58 pg/ml) ve geç tedavi grubunda 9,62 pg/ml (4,7-11,83 pg/ml) bulundu. Serum IL-6 değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,0001$). Bu fark sağlam kontrol grubunun,

nefrotik kontrol, erken tedavi ve geç tedavi gruplarının üçünden de anlamlı olarak düşük olmasından kaynaklanıyordu (sırası ile $p=0,001$, $p<0,0001$ ve $p<0,0001$) Nefrotik kontrol grubu ile tedavi grupları arasında ve erken ile geç tedavi grubu arasında istatistiksel olarak fark bulunamadı ($p>0,017$) (Tablo 18, Şekil 17)

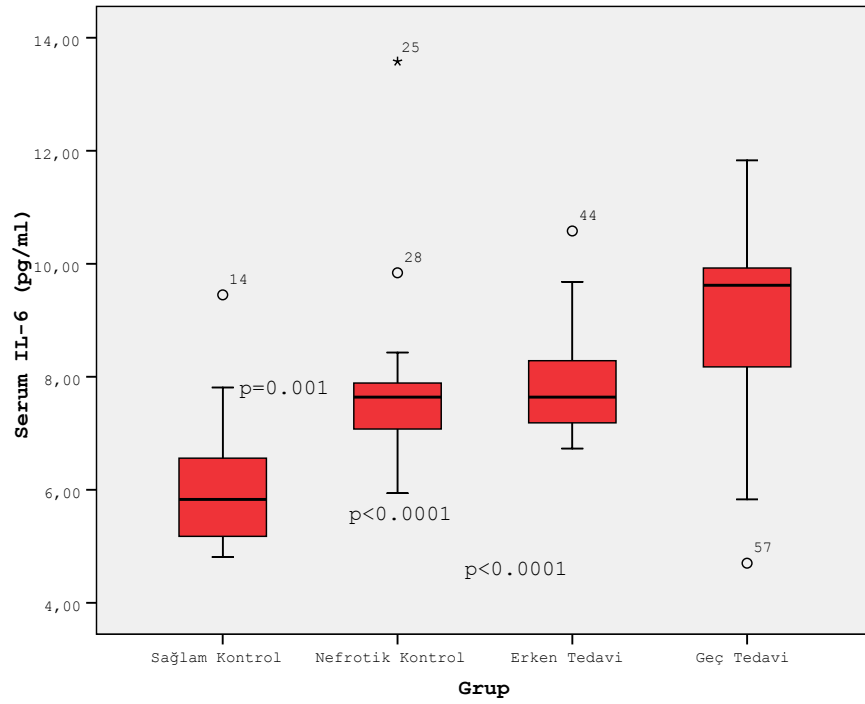
Tablo 18. Gruplar arası serum interlökin-6 düzeylerinin dağılımı ve median değerleri

Sıçan No	Sağlam Kontrol IL-6 düzeyi (pg/ml)	Nefrotik Kontrol IL-6 düzeyi (pg/ml)	Erken Tedavi IL-6 düzeyi (pg/ml)	Geç Tedavi IL-6 düzeyi (pg/ml)
1	4,81	7,24	7,13	11,71
2	4,92	7,92	8,37	10,01
3	5,43	7,41	9,68	11,83
4	6,39	7,13	7,24	9,79
5	6,28	7,86	7,64	9,51
6	6,73	8,43	7,24	8,43
7	5,83	7,64	8,20	9,62
8	6,05	5,94	7,02	11,66
9	5,60	7,64	7,75	9,68
10	4,98	13,58	7,75	7,92
11	5,09	6,22	7,36	5,83
12	5,26	7,02	6,85	4,70
13	7,81	9,84	9,62	6,96
14	9,45	7,81	10,58	9,84
15	7,64	6,85	6,73	9,45
Median	5,83 ^a	7,64 ^b	7,64 ^c	9,62 ^d

a-b: $p=0,001$

a-d: $p<0,0001$

a-c: $p<0,0001$



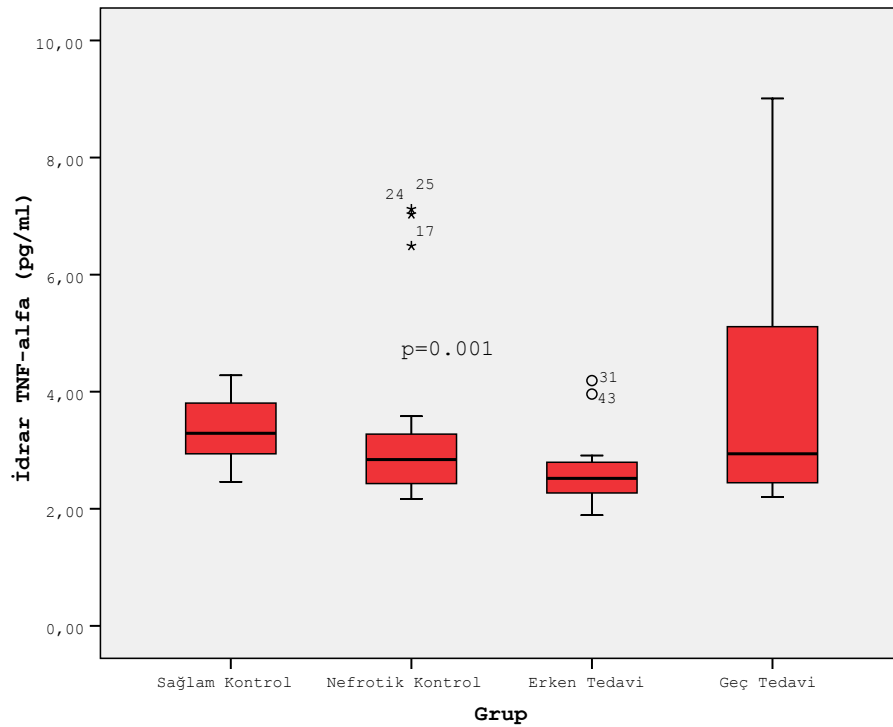
Şekil 17. Gruplara göre serum interlökin-6 değerlerinin dağılımı

İdrar Tümör Nekrozis Faktör- α değeri: İdrar tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) median değeri sağlam kontrol grubunda 3,29 pg/ml (2,46-4,3 pg/ml), nefrotik kontrol grubunda 2,84 pg/ml (2,17-7,12 pg/ml), erken tedavi grubunda 2,52 pg/ml (1,89-4,19 pg/ml) ve geç tedavi grubunda 2,94 pg/ml (2,2-9,01 pg/ml) bulundu. Sağlam kontrol grubu ile erken tedavi grubu karşılaştırıldığında sağlam kontrol grubunda idrar TNF- α değeri belirgin derecede yüksek bulundu ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p=0,001$). İdrar TNF- α değerlerinde diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,017$) (Tablo 19, Şekil 18).

Tablo 19. Gruplar arası idrar tümör nekrozis faktör- α değerleri dağılımı ve median değerleri

Sıçan No	Sağlam Kontrol İdrar TNF- α (pg/ml)	Nefrotik Kontrol İdrar TNF- α (pg/ml)	Erken Tedavi İdrar TNF- α (pg/ml)	Geç Tedavi İdrar TNF- α (pg/ml)
1	2,84	2,17	3,96	3,83
2	2,97	6,49	2,30	2,56
3	3,90	2,24	2,11	2,56
4	3,99	2,97	2,78	2,20
5	4,19	2,59	2,81	2,91
6	3,42	2,46	2,52	5,59
7	2,91	2,84	2,46	4,63
8	2,59	2,91	2,14	9,01
9	3,16	7,12	2,24	6,52
10	2,46	7,03	1,89	6,33
11	2,97	2,40	2,59	2,33
12	3,71	2,88	2,91	2,30
13	3,64	3,58	4,19	2,20
14	4,28	2,65	2,68	2,94
15	3,29	2,24	2,30	4,31
Median	3,29 ^a	2,84 ^b	2,52 ^c	2,94 ^d

a-c:p=0,001

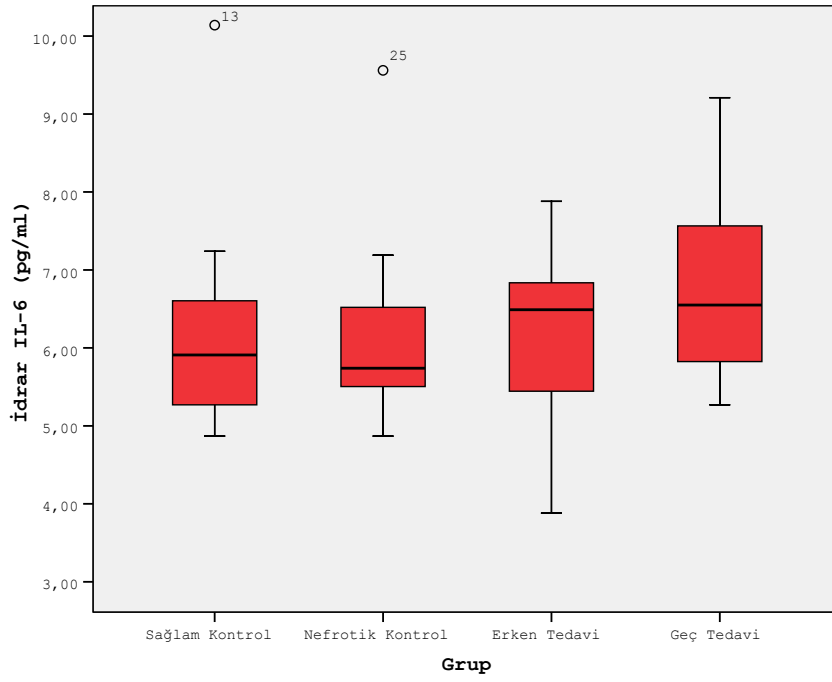


Şekil 18. Gruplara göre idrar tümör nekrozis faktör- α değerlerinin dağılımı

İdrar İnterlökin-6 değeri: İdrar interlökin-6 (IL-6) median değeri sağlam kontrol grubunda 5,97 pg/ml (4,9-10,1 pg/ml), nefrotik kontrol grubunda 5,74 pg/ml (4,87-9,56 pg/ml), erken tedavi grubunda 6,49 pg/ml (3,88-7,88 pg/ml) ve geç tedavi grubunda 6,55 pg/ml (5,27-20,46 pg/ml) bulundu. İdrar IL-6 değerlerinde tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,017$) (Tablo 20, Şekil 19).

Tablo 20. Gruplar arası idrar interlökin-6 düzeyleri median değerleri

Sıçan No	Sağlam Kontrol İdrar IL-6 (pg/ml)	Nefrotik Kontrol İdrar IL-6 (pg/ml)	Erken Tedavi İdrar IL-6 (pg/ml)	Geç Tedavi İdrar IL-6 (pg/ml)
1	4,87	5,27	7,71	8,06
2	5,04	6,32	5,33	6,55
3	5,91	5,62	6,61	6,37
4	6,72	5,56	6,49	5,27
5	7,19	7,01	5,56	5,56
6	5,97	6,26	7,36	6,95
7	5,27	5,74	7,88	6,66
8	5,56	5,56	5,22	14,26
9	5,27	7,19	5,10	9,21
10	5,16	9,56	3,88	20,46
11	5,62	4,87	6,03	5,85
12	7,24	6,08	7,01	5,80
13	10,14	6,72	6,66	7,07
14	6,49	5,27	6,49	5,51
15	6,14	5,45	5,74	6,43
Median	5,97	5,74	6,49	6,55



Şekil 19: Gruplara göre idrar interlökin-6 düzeylerinin dağılımı

Apoptotik hücre sayısı: Apoptotik hücre sayısı median değeri sağlam kontrol grubunda 83 (53-108), nefrotik kontrol grubunda 54 (28-84), erken tedavi grubunda 37 (22-60) ve geç tedavi grubunda 42 (17-62) bulundu. Apoptotik hücre sayısı sağlam kontrol grubu ile nefrotik kontrol grubu, erken ve geç tedavi grupları karşılaştırıldığında sağlam kontrol grubunda belirgin derecede yüksek bulundu ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı (sırası ile $p=0,004$, $p=0,0001$ ve $p=0,0001$). Apoptotik hücre sayısı nefrotik kontrol grubu ile erken ve geç tedavi grupları karşılaştırıldığında nefrotik kontrol grubunda belirgin derecede yüksek bulundu ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı (sırası ile $p=0,001$ ve $p=0,003$). Tedavi grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0,017$) (Tablo 21, Şekil 20).

Tablo 21. Gruplar arası idrar apoptotik hücre sayısı dağılımı ve median değerleri

Sıçan No	Sağlam Kontrol Apoptotik hücre sayısı	Nefrotik Kontrol Apoptotik hücre sayısı	Erken Tedavi Apoptotik hücre sayısı	Geç Tedavi Apoptotik hücre sayısı
1	61	84	28	21
2	85	28	60	17
3	83	78	42	48
4	100	48	53	45
5	65	46	25	62
6	84	72	37	42
7	70	77	22	42
8	108	35	43	46
9	53	68	49	26
10	106	48	25	43
11	84	58	37	33
12	53	50	27	60
13	77	77	34	35
14	86	54	45	49
15	64	48	28	36
Median	83 ^a	54 ^b	37 ^c	42 ^d

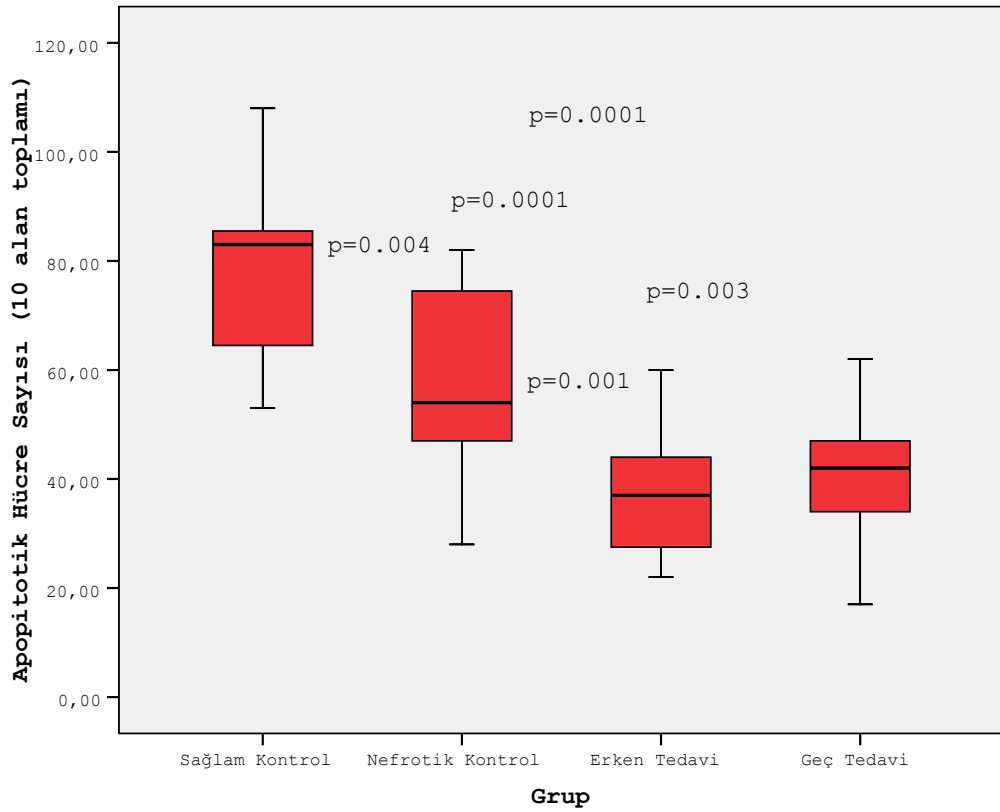
a-b:p=0,004

b-c:p=0,001

a-d:p=0,0001

a-c:p=0,0001

b-d:p=0,003



Şekil 20. Gruplara göre apoptotik hücre sayısı dağılımı

5. TARTIŞMA

Steroidlerin keşfinden önce tedavisi mümkün olmayan bir hastalık olarak bilinen NS'lu hastalar araya giren sekonder enfeksiyonlardan veya hayatta kalabilenlerde proteinüriye bağlı gelişen son dönem böbrek yetmezliğinden kaybediliyordu^{1,2}. Steroidlerin bulunmasıyla çocukluk dönemi NS'ların yaklaşık %80'i tedavi edilebilmesine rağmen MLH dışındaki sebeplerle oluşan NS'lu hastaların çoğunda steroid tedavisine başlangıçta veya daha sonra direnç geliştiği bilinmektedir^{1,2,4,15}. Steroide dirençli olgular uygun tedavi edilmezse proteinürileri devam ederek SDBY'ne ilerler^{1,2,4,43}. Steroide yanıtızsız hastaların tedavisi için siklofosfamid, siklosporin A, azotiopirin, klorambusil, MMF ve takrolimus gibi immun supresif ajanlar denenmesine rağmen masif proteinürisi devam eden hasta sayısı küçümsenemeyecek kadar fazla olması araştırmacıları yeni tedavi seçeneklerini denemeye zorlamaktadır^{2,10-15,38}.

5.1 Sıçanların Seçimi ve Bakımı

Bu konuda daha önce yapılan çalışmalarda Wistar türü sıçanların sık kullanılması ve 6 aylık yaşam süresinden sonra yaşlanmayla birlikte böbreklerde glomeruloskerozun arttığı ve buna bağlı proteinürinin ortaya çıkabileceği gösterilmiş olması, cins, tür ve yaş seçimi konusunda bize yol gösterici olmuştur. Bu çalışmada da adriamisinle nefrotik sendrom oluşturulan Wistar albino türü, ortalama yaşları 3–3,5 aylık olan genç erişkin erkek sıçanlar kullanıldı^{39, 40, 97}. Gruplar ağırlık açısından incelendiğinde gruplar arasında başlangıç ağırlık değerleri yönünden farklılık olmadığı görüldü ($p>0,017$). Sıçanların haftalık tartı takiplerinde adriamisin verilen gruplarda ilk hafta iştah azalması ve ishal nedeni ile tartı kaybı olduğu sonraki haftalarda nefrotik kontrol grubunda ödem ve asit artışına bağlı, erken tedavi grubunda da NS gelişmediğinden grupların son ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0,017$). Geç tedavi grubunda ise verilen tedaviye bazı sıçanların cevap vermesi, asit ve ödemin azalmasına bağlı olarak son ağırlık median değerinin sağlam kontrol grubundan ve erken tedavi grubundan istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu tespit edildi ($p<0,0001$, $p=0,003$). Erken tedavi grubunda ağırlık kaybının az olması talidomidin antiemetik etkisine bağlandı.

Sıçanların bakımı literatürde yer alan diğer çalışmalarda olduğu gibi standart sıçan yemi ile beslenme, normal musluk suyu ve 12 saatlik aydınlık karanlık periyodunda tutma şeklinde yapıldı^{39,40, 96-98}.

5.2 Deneysel Nefrotik Sendrom Modeli

Deneysel NS modeli; NS'un patofizyolojisinden sorumlu olduğu düşünülen immunolojik olayları belirlemek, histopatolojik değişiklikleri ve bunların biyokimyasal parametreler üzerine etkilerini ortaya koyabilmek ve nefrotik sendrom tedavisinde yeni yöntem veya ilaçları denemek amacıyla dışardan verilen toksik ya da immunolojik uyaranlarla oluşturulabilmektedir^{39,91-93,98,111,259}. Deneysel NS modeli oluşturmak için kullanılan puromisin ve adriamisin aminonükleozidi toksik etkileri ile sıçanlarda erken dönemde MLH, geç dönemde FSGS bağlı NS tablosuna neden olmaktadır^{39, 91-93, 98}. Bu iki ilaç dışında tavşanlardan elde edilen sıçan antiglomeruler bazal membran antikollarının kullanılması ile oluşturulan Heyman nefrit modelinde kresentrik glomerulonefritteki immunopatolojik olaylara ışık tutabilmektedir^{41, 111-113}.

Bertani^{39,40} ve ark. 7,5 mgr/kg tek doz intravenöz adriamisin vererek sıçanlarda nefrotik sendrom oluşturmuş, deney bitiminde hem biyokimyasal parametreleri, hem de böbrekten alınan parçaların histopatolojisini incelemişlerdir. Bu çalışmalarda adriamisin verdikten 4–5 gün sonra proteinürinin başladığını, tam nefrotik sendromun 15. günde ortaya çıktığını ve patolojik bulguların ise 28. günde MLH ile uyumlu olarak ortaya çıktığını göstermişlerdir. Okuda⁹⁷ ve ark. kronik progresif glomeruler hastalık oluşturmak için adriamisini kullanmışlar ve benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Enalaprilin nefrotik sendromda karaciğer yağlanmasını önlediğini gösteren bir çalışmada da 7,5 mgr/kg tek doz intravenöz adriamisin verilerek nefrotik sendrom oluşturulmuştur²⁶². Nitrik oksit üretimi ve apoptozisin incelendiği Türkiye'de yapılan bir çalışmada ise 5 mg/kg intravenöz tek doz adriamisin verilerek deneysel nefrotik sendrom oluşturulmuştur²⁶³. Nefrotik sendrom modelinin sadece adriamisinin intravenöz verilmesiyle değil aynı zamanda 5 mg/kg tek doz intraperitoneal adriamisin enjeksiyonundan sonra da nefrotik sendrom oluşturulabildiği gösterilmiştir²⁶⁴.

Bu çalışmada daha önce bölümümüzde Dr. Büyükçelik ve ark. yaptığı tez çalışmasında 10 mg/kg intraperitoneal adriamisin ile en iyi nefrotik sendrom tablosu

oluşturulabildiği için adriamisin 10 mg/kg tek dozda intraperitoneal verildi²⁵⁹. Sağlam kontrol grubu ile nefrotik kontrol grubunun serum total protein, serum albümin, serum trigliserit, serum total kolesterol, idrar protein düzeyleri ve idrar protein/kreatinin oranları karşılaştırıldığında, nefrotik kontrol grubunda nefrotik sendromda beklendiği gibi serum total protein düzeylerinin sağlam kontrol grubuna göre belirgin oranda düştüğü (Şekil 8), serum albümin düzeylerinin sham grubuna göre belirgin oranda düştüğü (Şekil 9), serum total kolesterol seviyelerinin sağlam kontrol grubuna göre belirgin oranda yükseldiği (Şekil 10), serum trigliserit seviyelerinin sağlam kontrol grubuna göre belirgin oranda yükseldiği (Şekil 11), proteinürinin nefrotik kontrol grubunda belirgin derecede arttığı (Şekil 14) ve idrar protein/kreatinin oranının ise nefrotik sınırların çok çok üzerinde olduğu (Şekil 16) ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu ($p<0,001$) gözlemlendi. Böbrek dokuları incelendiğinde ışık mikroskopisi bulguları normaldi. Bu bulgular sonucu 10 mg/kg intraperitoneal adriamisin verilen tüm sıçanlarda literatürde belirtildiği gibi deneysel nefrotik sendrom oluşturduğundan MLH deneysel NS modeli için uygun bir yöntem olduğu desteklenmiş oldu^{39, 259, 264}.

5.3. Talidomidin Etkisi

Talidomid, TNF- α , IL-6 ve NK- κ B gibi antiinflamatuvar mediatörlerin üretimini, angiogenezi, hücresel adezyon moleküllerinin salınımını baskılayan ve hem proapoptotik hemde antiapoptotik özellikleri olan yeni bir immunmodülatör ajandır²¹⁻²⁵. Bu etkilerinden dolayı talidomid Behçet hastalığı, Crohn hastalığı, sorkoidoz, SLE'nin cilt bulguları, multipl myeloma ve solid tümörler gibi immun sistemle ilişkili hastalıklarda steroid tedavisinde kullanılan dozun azaltılması için kullanılmaktadır²⁴⁻²⁶. Yan etkileri nedeniyle sadece standart tedavi rejimlerine cevap vermeyen hastalarda tercih edilmektedir²⁷.

5.3.1. Talidomidin İnterlökin-6'ya Etkisi

IL-6 inflamatuvar uyarı (IL-1 β , TNF) veya hasarlanmada tüm hücreler tarafından sentezlenen pleotropik bir sitokindir. IL-1, IL-2 ve TNF- α IL-6 sentezini arttırırken, IL-4 ve IL-13 sentezini inhibe ettiği bildirilmektedir^{217,218}. IL-6 IL-1 ve TNF- α salınımını azaltarak lökositlerde anti inflamatuvar yanıtı, IL-1ra ve IL-1Rt-2 decoy reseptörünün

salınımında artışa, TNF soluble reseptör salınımında artışa ve reaktif oksijen radikallerinin salınımında azalmaya sebep olarak inflamatuvar yanıtı azaltır^{221,222,265}. IL-6 farklı türlerde ve farklı böbrek hastalıklarında böbrekte karışık etkiye sahiptir. Önceleri IL-6'nın mezangial hücre proliferasyonunu arttırdığı bildirilirken, Ikeda ve arkadaşlarının yaptığı çalışma bunu desteklememektedir²²³. Horii ve ark. yaptığı çalışmada IL-6'nın insan nefritinin mesangial proliferatif tipinde serum ve idrarda hastalık aktivitesi ile artış gösterdiği bulunmuştur²²⁴. Yinede bunun inflamasyonun sebebini sonucumu olduğunu bilmek mümkün değildir. Karkar ve ark. yaptığı çalışmalarda da nefrotoksik nefrit oluşturulan sıçanlarda IL-6 infüzyonunun, nötrofil infiltrasyonunu, makrofaj aktivasyonunu, idrarda IL-1 β atılımını ve albuminüriyi azalttığı bildirilmiştir²²⁶⁻²²⁷.

Bizim çalışmamızda da adriamisin verilerek NS oluşturulan çalışma gruplarındaki sıçanlarda serum IL-6 düzeyleri sağlam kontrol grubu çalışma grupları ile karşılaştırıldığında serum IL-6 düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu tespit edildi ($p < 0,001$). Serum IL-6 düzeylerindeki artış literatürde bildirilen hücre hasarlanmasında IL-6 düzeyinin arttığı bilgisini desteklemektedir. Talidomidin IL-6 salınımını baskıladığı bildirilmesine rağmen kontrol ve tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamaması tedavide kullanılan dozun Prakash ve ark. bildirdiği 100-150 mg/kg'lık yüksek dozlara göre daha düşük doz (10 mg/kg) kullanılmasına bağlı olabilir²⁶⁶.

Horii ve ark. yaptığı çalışmada mesPGN'de idrar IL-6 düzeyinin belirgin derecede arttığı ve bunun tanıyı destekleyici ve hastalığın ağırlığını tespit edecek bir tetkik olabileceği bildirdiği makalesinde MLH ve membranöz nefropatide ise idrar IL-6 düzeylerini normal sınırlarda buldu²⁶⁷. Bizim çalışmamızda da MLH benzeri NS tablosu oluşturulduğundan sağlam kontrol grubunda idrar IL-6 düzeyi açısından gruplar arasında literatürle uyumlu olarak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p > 0,017$).

5.3.2. Talidomidin Tümör Nekrozis Faktör- α 'ya Etkisi

TNF- α insan ve hayvan böbrek hastalıklarında hasarlanma ve inflamasyonda rol oynayan en önemli sitokindir^{190,193,268}. Glomerüler hastalıkların patogenezinde TNF- α 'nın rolü kan akımının ve filtrasyon hızının azalması, kapiller duvar bariyer fonksiyonunda değişiklikler, kapiller trombus oluşumu ve kan kaynaklı hücreler tarafından böbreğin

infiltrasyonunu içerir²⁰¹. TNF- α 'nın mesangial¹⁸²⁻¹⁸⁴, glomerüler^{185,186} ve tubuler epitelial hücreleri^{187,188} içeren intrinsik renal hücreler tarafından da üretildiği bildirilmektedir.

TNF- α albuminin glomerüler geçirgenliğini arttırmaktadır^{197,198}. TNF- α ile proteinüri arasındaki ilişkiyi açıklamak için bir çok mekanizma bildirilmiştir. Hasarlanma bölgesine lökositlerin göçü yanında sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin uyarılması gibi intrinsik hücrelerdeki biyolojik değişikliklerde TNF- α salınımından sorumlu tutulmuştur²⁰⁴. Süperoksitlerin yapımı²⁰⁴, glomerüler bazal membranda anionik bölgenin azalması²¹⁴, endotelial ve mezengial hücrelerde değişikliklerin uyarılması²⁰⁵, sülfatlanmış glikozaminoglikozidlerin dağılımı ile ilişkili mekanizmalar tarafından glomerüler bazal membranın hasarlanması²¹⁵, TNF- α ve proteinüri arasındaki ilişkiyi açıklayan diğer mekanizmalardır. Anti-TNF- α antikoru veya soluble TNF reseptör p55 ile pasif immunizasyonun albuminüriyi azaltmasında TNF- α 'nın rolünü desteklemektedir^{199,200,269,270}. TNF- α 'nın sistemik verilmesi tavşanlarda glomerüler hasarlanmaya yol açmış²⁷¹ ve sıçanlarda nefrotoksik nefritte glomerüler hasarlanmanın derecesini arttırmıştır²⁷².

Süranyi ve ark.²⁰⁵ 1993'de FSGS ve membranöz nefropatide serum ve idrar TNF- α düzeylerinin relapsa kontrol ve MCNS'den yüksek olarak bulduklarını ve bunun remisyonda normale döndüğünü bildirdikten daha sonra nefrotik sendromlu hastaların PBMC kültürlerinden yapılan çalışmalarda TNF- α düzeylerinin arttığını bildiren çalışmalar yayınlanmıştır^{193,198,204,206,208}. Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise MCNS ve puromisin ile oluşturulan deneysel nefrotik sendrom modelinde serum ve idrar TNF- α düzeylerinin artmadığı, fakat böbrek dokusunda oluşan TNF- α 'nın proteinüriden sorumlu olabileceğini bildirdiler^{213,273}. Tekamura ve ark. MCNS'de TNF- α için özel antikor ile boyayarak glomerül ve interstisyumda artmış boyanma tespit ettiler¹⁹². Niemir ve ark. in situ hibridizasyon yöntemiyle, MCNS'li hastaların mesangial bölgelerinde TNF- α 'nın artmış dağılımını gösterdiler²⁰⁷.

Cho ve ark. relaps olan hastalarda idrar TNF- α ile serum TNF- α artışının remisyona göre anlamlı olarak yüksek bulmalarına rağmen, proteinüri ile korele olmaması nedeniyle anlamlı olmadığını ve MCNS'nin patogenezinde primer rol oynayamayacağını bildirdi²⁰³.

Bizim çalışmamızda adriamisin verilerek NS oluşturulan çalışma gruplarındaki sıçanlarda serum TNF- α düzeyleri sağlam kontrol grubu ile karşılaştırıldığında literatürdeki MCNS'li hastalardaki sonuçlarla uyumlu olarak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı(p>0,017). Talidomidin TNF- α salınımını baskıladığı bildirilmesine

rağmen kontrol tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamaması tedavide kullanılan dozun Prakash ve ark. bildirdiği 100-150 mg/kg'lık yüksek dozlara göre daha düşük doz (10 mg/kg) kullanılmasına bağlı olabilir²⁶⁶.

TNF- α 'nın molekül ağırlığı 17.000 daltondur ve filtrasyon bariyerinden geçebilir. Proteinüri varlığında idrardan TNF- α 'nın atılımında artmaktadır. Higuchi ve ark. yaptığı çalışmada idrarda TNF- α 'nın artışının tespit edilememesini, idrarda tespit edilmesinin zor olmasına, idrardaki inhibitör faktörlere ve idrarın tam olmayan düzelmelerine bağlı olabileceğini bildirmişlerdi²¹³. Sağlam kontrol grubu ile erken tedavi grubu karşılaştırıldığında sağlam kontrol grubunda idrar TNF- α değeri belirgin derecede yüksek bulundu ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p=0,001$). Bu farkın talidomidin TNF- α 'yı baskılamasına bağlayabiliriz. İdrar TNF- α değerlerinde diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,017$).

5.3.3. Talidomid'in Apoptozise Etkisi

Apoptozis aşırı çoğalan veya zararlı olabilecek hücrelerin ortadan kaldırılması ve hücre sayısının sabit tutulması için çalışan fizyolojik bir süreç olduğundan birçok gelişimsel, immunolojik ve toksik olayların sürecini olumlu ya da olumsuz etkileyebilmektedir^{28,35}. Apoptozis fizyolojik bir programlı hücre ölüm süreci olduğundan genellikle intrinsik sinyallerle başlatılmaktadır. Dışardan gelen toksik veya immunolojik uyarıların da apoptozis sürecini başlatabildiği gösterilmiştir³⁵.

Adriamisinle başlayan olayların temelini nefrotoksik etki oluşturmaktadır^{40,41}. Ancak sürecin ileri aşamalarında hasarlı doku bölgesine inflamatuvar hücrelerin göçü ve bu hücrelerden bazı mediatörlerin salınması da olaya katkıda bulunmaktadır^{40,41}. Bu iki mekanizma ve bu mekanizmalara bağlı tetiklenen apoptozisin nefrotik sendrom tablosu gelişimine neden olduğu düşünülmektedir^{263, 264}. Daha önceki çalışmalarda gösterildiği üzere hasar oluşumundan iyileşmeye veya tam organ yeterizliğinin geliştiği terminal döneme kadar farklı basamaklarda ortaya çıkan apoptozis farklı sonuçlara neden olabilmektedir^{30,31,35}. Hasar aşamasında parankim hücrelerindeki ve olay yerine göç eden inflamatuvar hücrelerdeki apoptozis olayın şiddetlenmesine katkıda bulunabilirken, iyileşme aşamasında fibroblatlarda apoptozisin artması olayın sekelle sonuçlanmasını engelleyebilmektedir³⁵.

Adriamisinin hücrelerde apoptozise neden olabileceği Tsang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada gösterilmiştir. Burada doxorubisinin (adriamisinin) kanser hücrelerinde apoptozise neden olduğu ve bu etkiyi ortadan kaldıracak genetik değişikliklerin kemoterapi yetersizliği ile sonuçlandığı gösterilmiştir²⁷⁵. Japonya'dan bildirilen bir çalışmada ise renal cell karsinom hücrelerinde adriamisinin apoptozise neden olabileceği gösterilmiştir²⁷⁶.

Hollanda'dan bildirilen bir çalışmada van de Water ve arkadaşları adriamisinden sonra renal tübüler hücrelerde apoptozun arttığını göstermişlerdir²⁷⁷. Sıçanlarda adriamisine oluşturulan nefrotik sendrom modelinde kronik tübülointerstisiyel nefritin bir bulgusu olarak tübüler hücrelerde fenotipik değişikliklerin ve apoptozisin meydana geldiği gösterilmiştir²⁷⁸. Özen ve arkadaşları adriamisine oluşturulan nefrotik sendrom modelinde nitrik oksit üretiminin rolünün araştırıldığı deneysel sıçan çalışmasında özellikle tübülointerstisiyel alanda apoptotik hücrelerin yoğunlaştığını ve aynı bölgede inflamatuvar hücre oranının da artmış olduğu gösterilmiştir²⁶³. Usta ve arkadaşlarının pentoksifilinin etkilerini araştırdığı bir çalışmada adriamisin kullanılarak nefrotik sendrom modeli oluşturulmuş ve apoptotik hücrelerin sayısında artış olduğu gösterilmiştir²⁷⁸. Büyükçelik ve ark.'nın bölümümüzde yaptığı çalışmada adriamisin ile oluşturulan nefrotik sendrom modelinde apoptozisin artmadığı bulundu²⁵⁹.

Bizim çalışmamızda adriamisine oluşturulan nefrotik kontrol grubu ile sağlam kontrol grubu karşılaştırıldığında apoptozise uğrayan hücre sayısında nefrotik kontrol grubunda artış olmadığı gözlemlendi. İki grup arasında apoptotik hücre sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0,011$). Bizim bulgularımızda sağlam kontrol grubunun apoptotik hücre sayısındaki fazlalık literatürde belirtilen proteinüriye bağlı gelişen tubuler hücrelerdeki apoptozis artışı ile uyumlu değildi, bu fazlalığa yorum getirilemedi. Apoptozis oranlarında talidomid ile erken ve geç tedavi gruplarında nefrotik kontrol grubuna göre belirgin düşük olduğu gözlemlendi ($p=0,001-0,003$) ve bu talidomidin apoptozisi azaltmasına bağlandı. Tedavi grupları arasında apoptoz açısından anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,017$).

5.3.4. Talidomid'in Proteinüriye Etkisi

Proteinürinin kendisi podosit ve tubuler hücrelere zararlıdır ve böbrek hastalıklarının ilerlemesine yol açan en önemli faktörlerden birisi olduğu kabul edilmektedir²⁷⁹⁻²⁸³. Ağır proteinürinin geri dönüşümsüz mesangial değişikliklerin gelişimini arttırdığı bilinmektedir. Proteinüri deneysel böbrek hastalıklarında olduğu gibi insanlarda ilerleyici böbrek fonksiyon kaybına neden olmaktadır¹⁶. Diğer yandan proteinüri dislipidemi, hiperkoaglobulite gibi böbrek hasarlanmasını arttıran sistemik bozukluklarda arttırmaktadır²⁸⁴⁻²⁸⁶.

Talidomid TNF reseptör ilişkili periodik sendrom ve inflamasyon artışına bağlı gelişen sekonder amiloidozisin yol açtığı proteinürinin tedavisinde etkili olduğu bildirilmiştir^{210,211}.

Bizim çalışmamızda erken tedavi grubunda nefrotik kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hem proteinürinin hemde protein/kreatinin oranının istatistiksel olarak anlamlı düzeldiğini tespit ettik ($p=0,002$, $P=0,002$). Geç tedavi grubu ile nefrotik kontrol grubu karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı olmasada proteinüri ve protein/kreatinin oranının belirgin olarak azaldığı görüldü. Erken tedavi grubunda 9 sıçanda, geç tedavi grubunda 7 sıçanda proteinürinin düzeldiği veya oluşmadığı görüldü. Proteinürideki düzelmeye paralel olarak talidomid alan gruplarda total protein, albumin değerlerinde yükselme ve serum lipidlerinde ise düşme tespit edildi. Talidomidin proteinüriyi azaltması, adriamisinin serbest oksijen radikallerini yoluyla podosit hasarlanması yaparak proteinüri yapması engelleyerek yaptığını düşünüyoruz.

5.4. Talidomidin Yan Etkileri

Talidomid yan etkileri olarak en sık doğum defektleri, uyuşukluk, uyuklama, periferik nöropati, baş dönmesi, nötropeni, hipersensitivite, bradikardi ve konvülsyon bildirilmektedir. Bizim çalışmamızda kontrol grubunda bir sıçanın AST ve ALT değerleri, erken tedavi grubunda iki sıçanın özellikle AST değerleri normalden daha yüksek olmasına karşın genel ortalamanın sağlam kontrol grubunda diğer gruplardan farklı olmadığı tespit edildi ($p>0,017$). Erken tedavi grubunda en yüksek AST değerlerinin tespit edilmesi uzun süre kullanımda kendi prospektüs bilgilerinde % 25 AST yüksekliği bildirildiği için

dikkatli olunması gerektiğini düşündürdü. BUN ve kreatinin değerlerinde sağlam kontrol ve talidomid tedavisi alan gruplar arasında fark bulunmaması böbrek fonksiyonlarını etkilemediğini gösterdi. Talidomid alan çocuklar parestezi ve nörotoksisite açısından takip edilmelidir. Parestezi hastaların çoğunda görülmesine rağmen tedavi kesilmesi gerekmediği bildirilmektedir. Sedatif etki ve konstipasyonunda tolere edilecek düzeyde olduğu bildirilmektedir. Talidomidin yeni derivelerinin teretojenik, sedatif veya nörotoksik etkisinin olmadığı bildirilmesi tedavide bunların kullanılmasının daha güvenilir olacağını desteklemektedir²⁵.

Sonuç olarak adriamisinle oluşturulan deneysel nefrotik sendrom modelinde talidomidin proteinüriyi istatistiksel olarak anlamlı oranda azalttığı ve proteinüriye bağlı gelişen hipoalbuminemi ve hiperlipidemiye önlediği tespit edildi. Bu olumlu etkiler erken tedavi diye adlandırılan adramisin verilmesiyle eş zamanlı talidomid verilen grupta daha belirgindi. Erken tedavi grubunda NS tablosundaki belirgin düzelme talidomidin filtrasyon bariyerindeki geçirgenlik artışına yol açan faktörleri baskıladığını ve proteinürinin oluşmadığını gösterdi. Serum ve idrar TNF- α ve IL-6 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı değişiklik olmaması talidomidin antiproteinürik etkisinin bunlarla ilişkili olmayabileceğini destekledi. Glomerüllerde apoptoz olmaması apoptotik hücrelerin tubuluslarda tespit edilmesi artmış proteinüri ile ilişkilendirildi. Adriamisin ile oluşturulan nefrotik sendrom modelinde reaktif oksijen radikallerinin rol oynadığı bilinmektedir, talidomidin hücresel adezyon moleküllerinin salınımını inhibe etmesi bu mekanizma üzerinden etki ettiğini düşündürmektedir^{32,108}. Bu nedenle etiolojisi kesin olarak bilinmeyen NS'un etiolojisinin belirlenmesi için ve proteinüriyi azaltıcı etkisinden dolayı, belki de sadece tüm tedavilere dirençli proteinürik olgularda tıpkı ACE^{86,87,88,89} inhibitörlerinde olduğu gibi proteinüriyi azaltıcı ve buna bağlı glomeruloskleroza yavaşlatıcı yardımcı bir ilaç olarak kullanılabilecek olan talidomid ile hem tedavi maliyetlerini düşürmek hem de etkinliğini daha net şekilde ortaya çıkarmak için daha geniş kontrollü çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünüyoruz.

6. SONUÇLAR

1. Çalışmaya dahil edilen sıçanların ilk ağırlıkları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,017$)
2. İlk hafta ağırlıkları sağlam kontrol grubunda nefrotik kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu [median 224 (211-258) ve 187 (157-236) mg/dl] ($p<0,0001$).
3. İlk hafta ağırlıkları sağlam kontrol grubunda erken tedavi grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu [median 224 (211-258) ve 213 (167-243) mg/dl] ($p=0,011$).
4. İlk hafta ağırlıkları sağlam kontrol grubunda geç tedavi grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu [median 224 (211-258) ve 184 (166-222) mg/dl] ($p<0,0001$).
5. İlk hafta ağırlıkları nefrotik kontrol grubunda erken tedavi grubuna göre anlamlı düşük bulundu, fakat istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı [median 187 (157-236) ve 213 (167-243) mg/dl] ($p=0,019$).
6. İlk hafta ağırlıkları nefrotik kontrol grubunda geç tedavi grubuna göre yüksek bulundu [median 187 (157-236) ve 184 (166-222) mg/dl], fakat istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p=0,87$).
7. İlk hafta ağırlıkları erken tedavi grubunda geç tedavi grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu [median 213 (167-243) ve 184 (166-222) mg/dl] ($p=0,01$).
8. İkinci hafta ağırlıkları sağlam kontrol grubunda nefrotik kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu [median 229 (200-270) ve 206 (174-243) mg/dl] ($p=0,003$).
9. İkinci hafta ağırlıkları sağlam kontrol grubunda erken tedavi grubuna göre yüksek bulundu [median 229 (200-270) ve 212 (167-240) mg/dl], fakat istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,045$).
10. İkinci hafta ağırlıkları sağlam kontrol grubunda geç tedavi grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu [median 229 (200-270) ve 195 (175-221) mg/dl] ($p<0,0001$).

11. İkinci hafta ağırlıkları nefrotik kontrol grubunda erken tedavi grubuna göre düşük bulundu [median 206 (174-243) ve 212 (167-240) mg/dl], fakat istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,174$).
12. İkinci hafta ağırlıkları nefrotik kontrol grubunda geç tedavi grubuna göre yüksek bulundu, fakat istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı [median 206 (174-243) ve 195 (175-221) mg/dl] ($p=0,345$).
13. İkinci hafta ağırlıkları erken tedavi grubunda geç tedavi grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu [median 212 (167-240) ve 195 (175-221) mg/dl] ($p=0,015$).
14. Son ağırlıkları sağlam kontrol grubunda nefrotik kontrol grubuna göre yüksek bulundu [median 235 (218-273) ve 225 (200-260) mg/dl], fakat istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,089$).
15. Son ağırlıkları sağlam kontrol grubunda erken tedavi grubuna göre yüksek bulundu [median 235 (218-273) ve 230 (190-260) mg/dl], fakat istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,202$).
16. Son ağırlıkları sağlam kontrol grubunda geç tedavi grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu [median 235 (218-273) ve 215 (170-245) mg/dl] ($p<0.0001$).
17. Son ağırlıkları nefrotik kontrol grubunda erken tedavi grubuna göre düşük bulundu [median 225 (200-260) ve 230 (190-260) mg/dl], fakat istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,564$).
18. Son ağırlıkları nefrotik kontrol grubunda geç tedavi grubuna göre yüksek bulundu [median 225 (200-260) ve 215 (170-245) mg/dl], fakat istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,033$).
19. Son ağırlıkları erken tedavi grubunda geç tedavi grubuna göre yüksekti ve istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu [median 230 (190-260) ve 215 (170-245) mg/dl] ($p=0,003$).
20. BUN değerleri sağlam kontrol grubunda nefrotik kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu [median 19 (13-24) ve 35 (18-106) mg/dl] ($p<0.0001$).
21. BUN değerleri sağlam kontrol grubunda erken tedavi grubuna göre düşük bulundu [median 19 (13-24) ve 21 (15-36) mg/dl], fakat istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,217$).

22. BUN değerleri sağlam kontrol grubunda geç tedavi grubuna göre düşük bulundu [median 19 (13-24) ve 21 (10-88) mg/dl], fakat istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,367$).
23. BUN değerleri nefrotik kontrol grubunda erken tedavi grubuna göre yüksek bulundu [median 35 (18-106) ve 21 (10-88) mg/dl] ve istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,007$).
24. BUN değerleri nefrotik kontrol grubunda geç tedavi grubuna göre yüksek bulundu [median 35 (18-106) ve 21 (10-88) mg/dl], fakat istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p=0,026$).
25. BUN değerleri erken tedavi grubunda geç tedavi grubuna göre düşük bulundu [median 21 (15-36) ve 21 (10-88) mg/dl], fakat istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p=0,967$).
26. Serum kreatinin değerleri sağlam kontrol , nefrotik kontrol, erken tedavi ve geç tedavi grubunda birbirine yakın bulundu [(sırasıyla median 0,4 (0,3-0,4), 0,3 (0,2-0,7), 0,4 (0,3-0,5) ve 0,3 (0,2-0,6) mg/dl] ve aralarında istatistiksel olarak fark bulunamadı ($p>0,017$).
27. Serum total protein değerleri sağlam kontrol grubunda nefrotik kontrol grubuna göre yüksek bulundu [median 6,3 (5,7-6,8) ve 4,8 (4,0-6,1) gr/dl]ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p<0,001$).
28. Serum total protein değerleri sağlam kontrol grubunda erken tedavi grubuna göre düşük bulundu [median 6,3 (5,7-6,8) ve 6,7 (4,6-7,3) gr/dl], fakat istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p=0,305$).
29. Serum total protein değerleri sağlam kontrol grubunda geç tedavi grubuna göre yüksek bulundu [median 6,3 (5,7-6,8) ve 4,7 (2,7-6,7) gr/dl] ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p=0,001$).
30. Serum total protein değerleri nefrotik kontrol grubunda erken tedavi grubuna göre düşük bulundu [median 4,8 (4,0-6,1) ve 6,7 (4,6-7,3) gr/dl]ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p<0,001$).
31. Serum total protein değerleri nefrotik kontrol grubunda geç tedavi grubuna göre düşük bulundu [median 4,8 (4,0-6,1) ve 4,7 (2,7-6,7) gr/dl], fakat istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p=0,838$).

32. Serum total protein değerleri erken tedavi grubunda geç tedavi grubuna göre yüksek bulundu [median 6,7 (4,6-7,3) ve 4,7 (2,7-6,7) gr/dl] ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p=0,001$).
33. Serum albümin değerleri sağlam kontrol grubunda nefrotik kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu [median 4,0 (3,4-4,1) ve 2,2 (1,5-3,7) gr/dl] ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p<0,001$).
34. Serum albümin değerleri sağlam kontrol grubunda erken tedavi grubuna göre daha düşük bulundu [median 4,0 (3,4-4,1) ve 4,1 (1,8-4,4) gr/dl], fakat aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,653$).
35. Serum albümin değerleri sağlam kontrol grubunda geç tedavi grubuna göre daha yüksek bulundu [median 4,0 (3,4-4,1) ve 1,9 (1,3-4,2) gr/dl] ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p<0,001$).
36. Serum albümin değerleri nefrotik kontrol grubunda erken tedavi grubuna göre daha düşük bulundu [median 2,2 (1,5-3,7) ve 4,1 (1,8-4,4) gr/dl] ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p=0,001$).
37. Serum albümin değerleri nefrotik kontrol grubunda geç tedavi grubuna göre daha yüksek bulundu [median 2,2 (1,5-3,7) ve 1,9 (1,3-4,2) gr/dl], fakat aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,838$).
38. Serum albümin değerleri erken tedavi grubunda geç tedavi grubuna göre daha yüksek bulundu [median 4,1 (1,8-4,4) ve 1,9 (1,3-4,2) gr/dl] ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p=0,002$).
39. Karaciğer fonksiyon testlerinden AST değerleri sağlam kontrol grubunda erken tedavi grubuna göre düşük, nefrotik kontrol ve geç tedavi grubuna göre daha yüksek bulundu [sırasıyla median sağlam 124 (94-180), kontrol 106 (68-149), erken 134 (93-171) ve geç 101 (58-134) U/L] ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,017$).
40. Karaciğer fonksiyon testlerinden ALT değerleri sağlam kontrol grubunda erken tedavi grubuna göre düşük, nefrotik kontrol ve geç tedavi grubuna göre daha yüksek bulundu [sırasıyla median sağlam kontrol 42 (30-57), nefrotik kontrol 38 (24-53), erken 41 (22-86) ve geç 36 (25-71) U/L] ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,017$).

41. Serum total kolesterol değerleri sağlam kontrol grubunda nefrotik kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulundu [median 58 (43-68) ve 218 (53-414) mgr/dl] ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p<0,001$).
42. Serum total kolesterol değerleri sağlam kontrol grubunda erken tedavi grubuna göre daha düşük bulundu [median 58 (43-68) ve 59 (48-310) mgr/dl], fakat aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,412$).
43. Serum total kolesterol değerleri sağlam kontrol grubunda geç tedavi grubuna göre anlamlı düşük bulundu [median 58 (43-68) ve 234 (45-297) mgr/dl] ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p=0,003$).
44. Serum total kolesterol değerleri nefrotik kontrol grubunda geç tedavi grubuna göre daha düşük bulundu [median 218 (53-414) ve 234 (45-297) mgr/dl], fakat aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,305$).
45. Serum total kolesterol değerleri erken tedavi grubunda geç tedavi grubuna göre anlamlı düşük bulundu [median 59 (48-310) ve 234 (45-297) mgr/dl], fakat aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,061$).
46. Serum trigliserit değerleri sağlam kontrol grubunda nefrotik kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulundu [median 43 (32-91) ve 395 (88-1189) mgr/dl] ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p<0,001$).
47. Serum trigliserit değerleri sağlam kontrol grubunda erken tedavi grubuna göre anlamlı düşük bulundu [median 43 (32-91) ve 82 (33-639) mgr/dl] ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p<0,001$).
48. Serum trigliserit değerleri sağlam kontrol grubunda geç tedavi grubuna göre anlamlı düşük bulundu [median 43 (32-91) ve 131 (36-574) mgr/dl] ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p=0,001$).
49. Serum trigliserit değerleri nefrotik kontrol grubunda erken tedavi grubuna göre daha yüksek bulundu [median 395 (88-1189) ve 82 (33-639) mgr/dl] ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p=0,015$).
50. Serum trigliserit değerleri nefrotik kontrol grubunda geç tedavi grubuna göre daha yüksek bulundu [median 395 (88-1189) ve 131 (36-574) mgr/dl], fakat aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,05$).

51. Serum trigliserit değerleri erken tedavi grubunda geç tedavi grubuna göre daha düşük bulundu [median 82 (33-639) ve 131 (36-574) mgr/dl], fakat aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,838$).
52. İdrar protein değerleri sağlam kontrol grubunda nefrotik kontrol grubundan belirgin derecede düşük bulundu [median 58 (20-131) ve 1404 (200-4066) mg/dl] ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p<0,001$).
53. İdrar protein değerleri sağlam kontrol grubunda erken tedavi grubundan daha düşük bulundu [median 58 (20-131) ve 136 (20-3410) mg/dl], fakat aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,148$).
54. İdrar protein değerleri sağlam kontrol grubunda geç tedavi grubundan daha düşük bulundu [median 58 (20-131) ve 259 (10-3610) mg/dl], fakat aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,029$).
55. İdrar protein değerleri nefrotik kontrol grubunda erken tedavi grubundan anlamlı yüksek bulundu [(median 1404 (200-4066) ve 136 (20-3410) mg/dl] ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p=0,002$).
56. İdrar protein değerleri nefrotik kontrol grubunda geç tedavi grubundan daha yüksek bulundu [median 1404 (200-4066) ve 259 (10-3610) mg/dl], fakat aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,098$).
57. İdrar protein değerleri erken tedavi grubunda geç tedavi grubundan daha düşük bulundu [median 136 (20-3410) ve 259 (10-3610) mg/dl], fakat aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,595$).
58. İdrar kreatinin değerleri sağlam kontrol grubunda nefrotik kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulundu ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p=0,004$), sağlam kontrol grubu diğer gruplardan daha düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. [sırasıyla median sağlam kontrol 50,1 (21,9-69,5), nefrotik kontrol 85 (28,7-315,6), erken 69,3 (30-157,1) ve geç 43,8 (20,9-218,9) mgr/dl] ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. ($p>0,017$).
59. İdrar protein/kreatinin oranları sağlam kontrol grubunda nefrotik kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulundu [median 1,1 (0,6-2,4) ve 17,1 (2,3-52) mg/mg], ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p<0,001$).

60. İdrar protein/kreatinin oranları sağlam kontrol grubunda erken tedavi grubuna göre daha düşük bulundu[median 1,1 (0,6-2,4) ve 1,5 (0,6-28,2) mg/mg], fakat aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,305$).
61. İdrar protein/kreatinin oranları sağlam kontrol grubunda geç tedavi grubuna göre daha düşük bulundu[median 1,1 (0,6-2,4) ve 5,6 (0,2-90,9) mg/mg], fakat aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,081$).
62. İdrar protein/kreatinin oranları nefrotik kontrol grubunda erken tedavi grubuna göre anlamlı yüksek bulundu[median 17,1 (2,3-52) ve 1,5 (0,6-28,2) mg/mg], ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p=0,002$).
63. İdrar protein/kreatinin oranları nefrotik kontrol grubunda geç tedavi grubuna göre daha yüksek bulundu[median 17,1 (2,3-52) ve 5,6 (0,2-90,9) mg/mg], fakat aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,345$).
64. İdrar protein/kreatinin oranları erken tedavi grubunda geç tedavi grubuna göre daha düşük bulundu[median 1,5 (0,6-28,2) ve 5,6 (0,2-90,9) mg/mg], fakat aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,285$).
65. İdrar volümü sağlam kontrol grubunda diğer gruplardan daha fazla bulundu [sırasıyla median sağlam kontrol 11 (8-24), nefrotik kontrol 7 (1-19), erken 9 (3-24) ve geç 7 (5,5-20) ml]] ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. ($p>0,017$).
66. Serum TNF- α düzeyi sağlam kontrol grubunda diğer gruplara göre düşük bulundu [sırasıyla median sağlam kontrol 4,1 (2,3-23,9), nefrotik kontrol 5,0 (2,48-17,9), erken 5,3 (2,3-24,1) ve geç 7,2 (3,0-24,1) pg/ml]], fakat aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,017$).
67. İdrar TNF- α düzeyi sağlam kontrol grubunda diğer gruplara göre daha yüksek bulundu [sırasıyla median sağlam kontrol 3,3 (2,5-4,3), nefrotik kontrol 2,8 (2,2-7,1), erken 2,5 (1,9-4,2) ve geç 2,9 (2,2-9,0) pg/ml]], sağlam kontrol grubu erken tedavi grubuyla karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p=0,001$), fakat diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,017$).
68. Serum IL-6 düzeyi sağlam kontrol grubunda nefrotik kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulundu[median 5,8 (4,8-9,4) ve 7,6 (5,9-13,6) pg/ml], ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p=0,001$).

69. Serum IL-6 düzeyi sağlam kontrol grubunda erken tedavi grubuna göre anlamlı düşük bulundu[median 5,8 (4,8-9,4) ve 7,6 (6,7-10,6) pg/ml], ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p<0,001$).
70. Serum IL-6 düzeyi sağlam kontrol grubunda geç tedavi grubuna göre anlamlı düşük bulundu[median 5,8 (4,8-9,4) ve 9,6 (4,7-11,8) pg/ml], ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p<0,001$).
71. Serum IL-6 düzeyi nefrotik kontrol grubunda erken tedavi grubuyla aynı bulundu [(median 7,6 (5,9-13,6) ve 7,6 (6,7-10,6) pg/ml)], ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,775$).
72. Serum IL-6 düzeyi nefrotik kontrol grubunda geç tedavi grubundan daha düşük bulundu [median 7,6 (5,9-13,6) ve 9,6 (4,7-11,8) pg/ml], fakat aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,041$).
73. Serum IL-6 düzeyi erken tedavi grubunda geç tedavi grubundan daha düşük bulundu [median 7,6 (6,7-10,6) ve 9,6 (4,7-11,8) pg/ml], fakat aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,041$).
74. İdrar IL-6 düzeyi sağlam kontrol grubunda nefrotik kontrolden yüksek diğer gruplardan düşük bulundu [sırasıyla median sağlam kontrol 5,9 (4,9-10,1), nefrotik kontrol 5,7 (4,8-9,6), erken 6,5 (3,9-7,9) ve geç 6,5 (5,3-20,5) pg/ml)], fakat gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,017$).
75. Apoptotik hücre sayısı sağlam kontrol grubunda nefrotik kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu[(median 83 (53-108) ve 54 (28-84)], ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p=0004$).
76. Apoptotik hücre sayısı sağlam kontrol grubunda erken tedavi grubuna göre anlamlı yüksek bulundu[(median 83 (53-108) ve 37 (22-60)], ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p=0001$).
77. Apoptotik hücre sayısı sağlam kontrol grubunda geç tedavi grubuna göre anlamlı yüksek bulundu[median 83 (53-108) ve 42 (17-62)], ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p=0001$).
78. Apoptotik hücre sayısı nefrotik kontrol grubunda erken tedavi grubundan anlamlı yüksek bulundu [median 54 (28-84) ve 37 (22-60)], ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p=0,001$).

- 79.** Apoptotik hücre sayısı nefrotik kontrol grubunda geç tedavi grubundan anlamlı yüksek bulundu [median 54 (28-84) ve 42 (17-62)], ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p=0,003$).
- 80.** Apoptotik hücre sayısı erken tedavi grubunda geç tedavi grubundan daha düşük bulundu [median 37 (22-60) ve 42 (17-62)], fakat aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,486$).

KAYNAKLAR

1. **Holmberg C, Tryggvason K, Kestila MK, Jalanko HJ.** Glomerular disease. In: *Pediatric Nephrology*, Avner E, Eds. 5th Ed, New York:Lippincott Williams and Wilkins, **2004**;501–664.
2. **Eddy AA, Symsons JM.** Nephrotic syndrome in childhood. *Lancet*, **2003**;362:629–639.
3. **Kaysen GA, Gambertoglio J, Felts J, Hutchinson FN.** Albumin synthesis, albuminuria and hyperlipidemia in nephrotic patients. *Kidney Int*, **1987**;31:1368–1376.
4. **Chesney R.** The changing face of childhood nephrotic syndrome. *Kidney Int*, **2004**;66:1294–1302.
5. **Habashy D, Hodson EM, Craig JC.** Interventions for steroid-resistant nephrotic syndrome: a systematic review. *Pediatr Nephrol*, **2003**;18:906–912.
6. **Fu LS, Shien CY, Chi CS.** Levamisole in steroid-sensitive nephrotic syndrome children with frequent relapses and/or steroid dependency: comparison of daily and every-other-day usage. *Nephron Clin Pract*, **2004**;97:137–141.
7. **Alshaya HO, Al-Maghrabi JA, Kari JA.** Intravenous pulse cyclophosphamide-is it effective in children with steroid-resistant nephrotic syndrome? *Pediatr Nephrol*, **2003**;18:1143–1279.
8. **Gulati S, Pokhariyal S, Sharma RK, Elhence R, Kher V, Pandey CM, Gupta A.** Pulse cyclophosphamide therapy in frequently relapsing nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant*, **2001**;16:2013–2017.
9. **Gulati S, Kher V.** Intravenous pulse cyclophosphamide –a new regime for steroid resistant focal segmental glomerulosclerosis. *Indian Pediatr*, **2000**;37:141–148.
10. **Loeffler K, Gowrishankar M, Yui V.** Tacrolimus therapy in pediatric patients with treatment-resistant nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*, **2004**;19:281–287.
11. **Schweda F, Liebl R, Riegger GA, Kramer BK.** Tacrolimus treatment for steroid- and cyclosporin-resistant minimal-change nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant*, **1997**;12:2433–2435.
12. **Briggs WA, Choi MJ, Scheel PJ.** Successful mycophenolate mofetil treatment of glomerular disease. *Am J Kidney Dis*, **1998**;31:213–217.
13. **Day CJ, Cockwell P, Lipkin GW, Savage CO, Howie AJ, Adu D.** Mycophenolate mofetil in the treatment of resistant idiopathic nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant*, **2002**; 17(11):2011–2013.
14. **Barletta GM, Smoyer WE, Bunchman TE, Flynn JT, Kershaw DB.** Use of mycophenolate mofetil in steroid-dependent and-resistant nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*, **2003**;18(8):833–837.
15. **Schwarz A.** New aspects of the treatment of nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol*, **2001**;12:44–47.
16. **Brenner BM, Meyer TW, Hostetter TH.** Dietary protein intake and the progressive nature of kidney disease: the role of hemodynamically mediated glomerular injury in the pathogenesis of progressive glomerular sclerosis in aging, renal ablation, and intrinsic renal disease. *N Engl J Med*, **1982**;307(11):652–659.

17. **Remuzzi G, Ruggenti P, Benigni A.** Understanding the nature of renal disease progression. *Kidney Int*, **1997**;51(1):2–15.
18. **Bertani T, Zoja C, Abbate M, Rossini M, Remuzzi G.** Age-related nephropathy and proteinuria in rats with intact kidneys exposed to diets with different protein content. *Lab Invest*, **1989**;60(2):196–204.
19. **Goldstein DA, Massry SG.** Diabetic nephropathy: clinical course and effect of hemodialysis. *Nephron*, **1978**; 20(5): 286–91.
20. **Brenner BM.** Nephron adaptation to renal injury or ablation. *Am J Physiol*, **1985**;249:324–337.
21. **Von Moos R, Stolz R, Cerny T, Gillessen S.** Thalidomide: from tragedy to promise. *Swiss Med Wkly*, **2003**;8: 77-87.
22. **Franks ME, Macpherson GR, Figg WD.** Thalidomide. *The Lancet*, **2004**;363:1802-1811.
23. **Teo SK.** Properties of Thalidomide and its Analogues: Implications for Anticancer Therapy. *AAPS Journal*. **2005**; 07(01): 14-19.
24. **Weber D.** Thalidomide and its derivatives : new promise for multiple myeloma. *Cancer Control*. **2003**; 10: 375-383.
25. **Dredge K, Marriot JB, Dalglish AG.** Immunological effects of thalidomide and its chemical and functional analogs. *Crit Rev Immunol*. **2002**; 22: 425-437.
26. **Yang B, Nahas AE, Thomas GL, Haylor JL, Watson PF, Wagner B, Johnson TS.** Caspase-3 and apoptosis in experimental chronic renal scarring. *Kidney Int*. **2001**;60:1765-1776.
27. **Coppo R, Amore A.** New perspectives in treatment of glomerulonephritis. *Pediatr Nephrol*. **2004**; 19: 256-265.
28. **Henkart PA.** Apoptosis: o death, where is thy sting? *J Immunol*, **1995**;154(10):4905–4908.
29. **Steller H.** Mechanisms and genes of cellular suicide. *Science*, **1995**;267(5203):1445–1449.
30. **Hughes J, Mooney A, Savill J.** Apoptosis: a key regulatory process in glomerulonephritis? *J Nephrol*, **1994**;8:93–99.
31. **Miyajima A, Chen J, Poppas DP, Vaughan ED, Felsen D.** Role of nitric oxide in renal tubular apoptosis of unilateral ureteral obstruction. *Kidney Int*, **2001**;59(4):1290–1303.
32. **Rincon J, Romero M, Viera N, Pedreanez A, Mosquera J.** Increased oxidative stress and apoptosis in acute puromycin aminonucleoside nephrosis. *Int J Exp Pathol*, **2004**;85(1):25–33.
33. **Gandolfo MT, Verzola D, Salvatore F, Gianiorio G, Procopio V, Romagnoli A, Giannoni M, Garibotto G.** Gender and the progression of chronic renal diseases: does apoptosis make the difference? *Minerva Urol Nefrol*, **2004**;56(1):1–14.
34. **Padanilam BJ.** Cell death induced by acute renal injury; a perspective on the contributions of apoptosis and necrosis. *Am J Physiol Renal Physiol*, **2003**;284(4):608–627.
35. **Ortiz A, Cuadrado SG, Lorz C, Egido J.** Apoptosis in renal diseases. *Front Biosci*, **1996**;1:30–47.
36. **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.

37. **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.
38. **Salcedo JR, Thabet MA, Latta K, Chan JC.** Nephrosis in childhood. *Nephron*, **1995**;71(4):373–385.
39. **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.
40. **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.
41. **Bertani T, Remuzzi G, Poggi A, Delaini F, Sacchi G, Morassi L, Verroust P, Mecca G, Donati MB.** Severe glomerular epithelial cell damage does not prevent passive Heyman nephritis in rats. *Clin Exp Immunol*, **1983**;51(1):38–44.
42. **Martin AN, Edelmann CM, Berstein J, Barnett H.** The nephrotic syndrome. In: *Pediatric Kidney Disease*, Edelmann CM Eds. 2nd Ed, Boston: Little Brown and Company, **1992**:1274–1290.
43. **Valentini RP, Smoyer WE.** Nephrotic syndrome. In: *Clinical Pediatric Nephrology*, Kher KK, Schnaper HW, Makker SP Eds. 2nd Ed, London: Informa UK Ltd, **2007**:155–194.
44. **D'agati V.** Pathologic classification of focal segmental glomerulosclerosis. *Semin Nephrol*, **2003**;23(2):117–134.
45. **Ferrario F, Rastaldi MP.** Histopathological atlas of renal diseases. Membranoproliferative glomerulonephritis. *J Nephrol*, **2004**;17(4):483–486.
46. **Troyanov S, Wall CA, Miller JA, Scholey JW, Cattran DC.** Idiopathic membranous nephropathy: definition and relevance of a partial remission. *Kidney Int*, **2004**;66(3):1199–1205.
47. **Austin HA, Antonovych TT, MacKay K, Boumpas DT, Balow JE.** Membranous nephropathy. *Ann Intern Med*, **1992**;116(8):672–682.
48. **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.
49. **Deschenes G, Doucet A.** Collecting duct (Na⁺/K⁺)ATPase activity is correlated with urinary sodium excretion in rat nephrotic syndromes. *J Am Soc Nephrol*, **2000**;11: 604–615.
50. **Feraille E, Vogt B, Rousselot M, Barlet-Bas C, Cheval L, Doucet A, Favre H.** Mechanism of enhanced Na-K-ATPase activity in cortical collecting duct from rats with nephrotic syndrome. *J Clin Invest*, **1991**;91:1295–1300.
51. **De Seigneux S, Kim SW, Hemmingsen SC, Frokiaer J, Nielsen S.** Increased expression but not targeting of ENaC in adrenalectomized rats with PAN-induced nephrotic syndrome. *Am J Physiol Renal Physiol*, **2006**;291:208–217.
52. **Lourdel S, Loffing J, Favre G, Paulais M, Nissant A, Fakitsas P, Creminon C, Feraille E, Verrey F, Teulon J, Doucet A, Deschenes G.** Hyperaldosteronemia and activation of the epithelial sodium channel are not required for sodium retention in puromycin-induced nephrosis. *J Am Soc Nephrol*, **2005**;16:3642–3650.
53. **Lewis DM, Tooke JE, Beaman M, Gamble J, Shore AC.** Peripheral microvascular parameters in the nephrotic syndrome. *Kidney Int*, **1998**;54:1261–1266.

54. **Thabet MA, Salcedo JR, Chan JC.** Hyperlipidemia in childhood nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*, **1993**;7(5):559–566.
55. **Olbricht CJ, Koch KM.** Treatment of hyperlipidemia in nephrotic syndrome: time for a change? *Nephron*, **1992**;62(2):125–129.
56. **Appel G.** Lipid abnormalities in renal disease. *Kidney Int*, **1991**;39(1):169–183.
57. **Gulati S, Sharma AP, Sharma RK, Gupta A, Gupta RK.** Do current recommendations for kidney biopsy in nephrotic syndrome need modifications? *Pediatr Nephrol*, **2002**;17(6):404–08.
58. **Hodson EM, Knight JF, Willis NS, Craig JC.** Corticosteroid therapy in nephrotic syndrome: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Arch Dis Child*, **2000**; 83(1):45–51.
59. **Ehrich JH, Brodehl J.** Long versus standard prednisone therapy for initial treatment of idiopathic nephrotic syndrome in children: Arbeitsgemeinschaft fur Padiatrische Nephrologie. *Eur J Pediatr*, **1993**;152(4):357–361.
60. **Ksiazek J, Wyszynska T.** Short versus long initial prednisone treatment in steroid-sensitive nephrotic syndrome in children. *Acta Paediatr*, **1995**;84(8):889–893.
61. **Bagga A, Hari P, Srivastava RN.** Prolonged versus standard prednisolone therapy for initial episode of nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*, **1999**;13(9):824–827.
62. **Ueda N, Chihara M, Kawaguchi S, Niinomi Y, Nonoda T, Matsumoto J, Ohnishi M, Yasaki T.** Intermittent versus long-term tapering prednisolone for initial therapy in children with idiopathic nephrotic syndrome. *J Pediatr*, **1988**;112(1):122–126.
63. **Ekka BK, Bagga A, Srivastava RN.** Single- versus divided-dose prednisolone therapy for relapses of nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*, **1997**;11(5):597–599.
64. **Filler G.** Treatment of nephrotic syndrome in children and controlled trials. *Nephrol Dial Transplant*, **2003**;18(16):75–78.
65. **A report of the International Study of Kidney Disease in Children.** The primary nephrotic syndrome in children. Identification of patients with minimal change nephrotic syndrome from initial response to prednisone *J Pediatr*, **1981**;98(4):561–64.
66. **Yorgin PD, Krasher J, Al-Uzri AY.** Pulse methylprednisolone treatment of idiopathic steroid-resistant nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*, **2001**;16(3):245–250.
67. **Imbasciati E, Gusmano R, Edefonti A, Zucchelli P, Pozzi C, Grassi C, Della Volpe M, Perfumo F, Petrone P, Picca M.** Controlled trial of methylprednisolone pulses and low dose oral prednisone for the minimal change nephrotic syndrome. *Br Med J*, **1985**;291(6505):1305–1308.
68. **Report of Arbeitsgemeinschaft fur Padiatrische Nephrologie.** Cyclophosphamide treatment of steroid dependent nephrotic syndrome: comparison of eight week with 12 week course. *Arch Dis Child*, **1987**;62(11):1102–1106.
69. **Rennert WP, Kala UK, Jacobs D, Goetsch S, Verhaart S.** Pulse cyclophosphamide for steroid-resistant focal segmental glomerulosclerosis. *Pediatr Nephrol*, **1999**;13(2):113–116.
70. **Guesry P, Lenior G, Broyer M.** Gonadal effect of chlorambucil given to prepubertal and pubertal boys for nephrotic syndrome. *J Pediatr*, **1978**;92(2):299–303.
71. **Callis L, Nieto J, Vila A, Rende J.** Chlorambucil treatment in minimal lesion nephrotic syndrome: a reappraisal of its gonadal toxicity. *J Pediatr*, **1980**;97(4):653–656.

72. **Abramowicz M, Barnett HL, Edelmann CM Jr, Greifer I, Kobayashi O, Arneil GC, Barron BA, Gordillo-P G, Hallman N, Tiddens HA.** Controlled trial of azathioprine in children with nephrotic syndrome. A Rreport of the International Study of Kidney Disease in Children. *Lancet*, **1970**;1(7654):959-961.
73. **Barratt TM, Cameron JS, Chantler C, Counahan R, Ogg CS, Soothill JF.** Controlled trial of azathioprine in treatment of steroid-responsive nephrotic syndrome of childhood. *Arch Dis Child*, **1977**;52(6):462–463.
74. **British Association for Paediatric Nephrology.** Levamisole for corticosteroid-dependent nephrotic syndrome in childhood. *Lancet*, **1991**;337(8757):1555–1557.
75. **Mongeau JG, Robitaille PO, Roy F.** Clinical efficacy of levamisol in the treatment of primary nephrosis in children. *Pediatr Nephrol*, **1988**;2(4):398-401.
76. **Davin JC, Merkus MP.** Levamisole in steroid-sensitive nephrotic syndrome of childhood: the lost paradise? *Pediatr Nephrol*, **2005**;20:10-14.
77. **Donia AF, Ammar HM, El-Agroudy AE, Moustafa FEH, Sobh MA.** Long-term results of two unconventional agents in steroid-dependent nephrotic children. *Pediatr Nephrol*, **2005**;20:1420-1425.
78. **Fu LS, Shien CY, Chi CS.** Levamisole in steroid-sensitive nephrotic syndrome children with frequent relapses and/or steroid dependency: Comparison of daily and every-other-day usage. *Nephron Clin Pract*, **2004**;97:137-141.
79. **Sümeği V, Haszon I, Ivanyi B, Bereczki C, Papp F, Turi S.** Long-term effects of levamisole treatment in childhood nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*; **2004**;19:1354-1360.
80. **Meyrier A.** Treatment of idiopathic nephrotic syndrome with cyclosporine A. *J Nephrol*, **1997**;10(1):14–24.
81. **Hoyer PF, Krull F, Brodehl J.** Cyclosporin in frequently relapsing minimal change nephrotic syndrome. *Lancet*, **1986**;2(8502):335.
82. **Niaudet P, Habib R.** Cyclosporin in the treatment of idiopathic nephrosis. *J Am Soc Nephrol*, **1994**;5(4):1049–1056.
83. **Hulton SA, Neuhaus TJ, Dillon MJ, Barratt TM.** Long-term cyclosporin A treatment of minimal-change nephrotic syndrome of childhood. *Pediatr Nephrol*, **1994**;8(4):401–403.
84. **Gregory MJ, Smoyer WE, Sedman A, Kershaw DB, Valentini RP, Johnson K, Bunchman TE.** Long-term cyclosporine therapy for pediatric nephrotic syndrome: a clinical and histologic analysis. *J Am Soc Nephrol*, **1996**;7(4):543–549.
85. **Westhoff TH, van der Giet M.** Tacrolimus in the treatment of idiopathic nephrotic syndrome. *Expert Opin Investig Drugs*, **2007**;16 (7):1099-1110.
86. **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.
87. **Cartwright ME, Jaenke RS.** Effects of daitary protein and captopril on glomerular permeselectivity in rats with unilateral nephrectomy. *Lab Invest*, **1988**;59(4):492–499.

88. **Remmuzzi A, Puntorieri S, Battaglia C, Bertani T, Remuzzi G.** Angiotensin converting enzyme inhibition ameliorates glomerular filtration of macromolecules and water and lessens glomerular injury in the rat. *J Clin Invest*, **1990**;85(2):541–549.
89. **Remuzzi A, Perticucci E, Ruggerenti P, Mosconi L, Limonta M, Remuzzi G.** Angiotensin converting enzyme inhibition improves glomerular size-selectivity in IgA nephropathy. *Kidney Int*, **1991**;39(6):1267–1273.
90. **Gansevoort RT, de Zeeuw D, de Jong PE.** Dissociation between the course of the hemodynamic and antiproteinuric effects of angiotensin I converting enzyme inhibition. *Kidney Int*, **1993**;44(3):579–584.
91. **Bohrer MP, Baylis C, Robertson CR, Brenner BM, Troy JL, Willis WT.** Mechanisms of the puromycin-induced defects in the transglomerular passage of water and macromolecules. *J Clin Invest*, **1977**;60(1):152–161.
92. **Caulfield JP, Farquhar MG.** Loss of anionic sites from the glomerular basement membrane in aminonucleoside nephrosis. *Lab Invest*, **1978**;39(5):505–551.
93. **Ryan GB, Karnovsky MJ.** An ultrastructural study of the mechanisms of proteinuria in aminonucleoside nephrosis. *KidneyInt*, **1975**;8(5):219–232.
94. **Caulfield JP.** Alterations in distribution of Alcian blue-staining fibrillar anionic sites in the glomerular basement membrane in aminonucleoside nephrosis. *Lab Invest*, **1979**;40(4):503–511.
95. **Bertolatus JA, and Hunsicker LG.** Glomerular sieving of anionic and neutral bovine albumins in proteinuric rats. *Kidney Int*, **1985**;28(3):467–476.
96. **Franco R, Gut A, Ferrari-Spadotto A, Georgette J, Gavras I, Gavras H.** Pressor mechanisms in adriamycin-induced nephropathy with hypertension in rats. *Hypertension*, **1994**;23(1):1246–1249.
97. **Okuda S, Oh Y, Tsuruda H, Onoyama K, Fujimi S, Fujishima M.** Adriamycin-induced nephropathy as a model of chronic progressive glomerular disease. *Kidney Int*, **1986**;29(2):502–510.
98. **Weening JJ, Rennke HG.** Glomerular permeability and polyanion in adriamycin nephrosis in the rat. *Kidney Int*, **1983**;24(2):152–159.
99. **Diamond JR, Bonventre JV, Karnovsky MJ.** A role of oxygen free radicals in aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int*. **1986**;29:478–483.
100. **Kojima K, Matsui K, Nagase M.** Protection of α 3-integrin-mediated podocyte shape by superoxide dismutase in the puromycin amino-nucleoside nephrosis rat. *Am J Kidney Dis*. **2000**;35: 1175–1185.
101. **Weening JJ, Rennke HG.** Glomerular permeability and polyanion in adriamycin nephrosis in the rats. *Kidney Int*, **1983**;24:152–159.
102. **O'Donnel MP, Michels L, Kasiske B, Raij L, Keane WF.** Adriamycin-induced chronic proteinuria: a structural and functional study. *J Lab Clin Med*, **1985**;106: 62–67.
103. **Whiteside C, Prutis K, Cameron R, Thompson J.** Glomerular epithelial detachment, not reduced charge density, correlates with proteinuria in adriamycin and puromycin nephrosis. *Lab Invest*, **1989**;61:650–660.
104. **Bertolatus JA, Hunsicker LG.** Glomerular sieving of anionic and neutral bovine albumins in proteinuric rats. *Kidney Int*, **1985**;28:467–476.

105. **de Zeeuw D, Tomasini R, Haas M, de Jong PE, Weening JJ, van der Hem GK.** Effect of mild charge modification of albumin on renal excretion in the rat. *Cont Nephrol*, **1988**;68:121-127.
106. **Whiteside C, Prutis K, Cameron R, Thompson J.** Glomerular epithelial detachment, not reduced charge density, correlates with proteinuria in adriamycin and puromycin nephrosis. *Lab Invest*, **1989**;61(6):650-660.
107. **Futenma A, Miyai H, Iida T, Hara T, Watanabe T, Shiono S, Fukatsu A, Kato K.** The protective effect of probucol on adriamycin nephrosis in the rat. *Nippon Jinzo Gakkai Shi*, **1995**;37(11):616-621.
108. **Ginevri F, Ghiggeri GM, Oleggini R, Barbano G, Bertelli R, Candiano G, Perfumo F, Gusmano R.** Low-protein diet and xanthine-metabolising enzymes in adriamycin nephrosis. *Nephrol Dial Transplant*, **1990**;5(11):63-65
109. **Raats CJ, van den Born J, Berden JH.** Glomerular heparan sulfate alterations: mechanisms and relevance for proteinuria. *Kidney Int*, **2000**;57(2):385-400.
110. **Remuzzi G, Bertani T.** Is glomerulosclerosis a consequence of altered glomerular permeability to macromolecules? *Kidney Int*, **1990**;38(3):384-394..
111. **Zamlausk-Tucker MJ, van Liew JB, Noble B.** Pathophysiology of the kidney in rats with Heymann nephritis. *Kidney Int*, **1985**;28(3):504-512.
112. **Couser WG, Steinmuller DR, Stilmant MM, Salant DJ, Lowenstein LM.** Experimental glomerulonephritis in the isolated perfused rat kidney. *J Clin Invest*, **1978**;62(6):1275-1287.
113. **Kerjaschki D, Farquhar MG.** Immunocytochemical localization of the Heymann nephritis antigen (GP330) in glomerular epithelial cells of normal Lewis rats. *J Exp Med*, **1983**;157(2):667-686.
114. **D'Amato RJ, Loughnan MS, Flynn E, Folkman J.** Thalidomide is an inhibitor of angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, **1994**;91:4082-4085.
115. **Mellin GW, Katzenstein M.** The saga of thalidomide: neuropathy to embryopathy, with case reports of congenital anomalies. *N Engl J Med*, **1962**;267:1184-1202.
116. **Kelsey FO.** Thalidomide update: regulatory aspects. *Teratology*, **1988**;38:221-226
117. **Mellin GW, Katzenstein M.** The saga of thalidomide: neuropathy to embryopathy, with case reports of congenital anomalies. *N Engl J Med*, **1962**;267:1238-1244.
118. **Lenz WA.** A short history of thalidomide embryopathy. *Teratology*, **1988**;38:203-215.
119. **Teo SK, Resztak KE, Scheffler MA, Kook KA, Zeldis JB, Stirling DI, Thomas SD.** Thalidomide in the treatment of leprosy. *Microbes Infect*, **2002**;4:1193-2002.
120. **Kenyon BM, Browne F, D'Amato RJ.** Effect of thalidomide and related metabolites in a mouse corneal model of neovascularization. *Exp Eye Res*, **1997**;64:971-978.
121. **Wnendt S, Finkam M, Winter W, Ossig J, Raabe G, Zwingenberger K.** Enantioselective inhibition of TNF-alpha release by thalidomide and thalidomide-analogues. *Chirality*, **1996**;8:390-396.
122. **Frederickson RC, Slater IH, Dusenberry WE, Hewes CR, Jones GT, Moore RA:** A comparison of thalidomide and pentobarbital: new methods for identifying novel hypnotic drugs. *J Pharmacol Exp Ther*, **1977**;203:240-251.

123. **Bauer KS, Dixon SC, Figg WD.** Inhibition of angiogenesis by thalidomide requires metabolic activation, which is species-dependent. *Biochem Pharmacol*, **1998**;55:1827-1834.
124. **Marriott JB, Westby M, Dalgleish AG.** Therapeutic potential of TNF- α inhibitors old and new. *Drug Discovery Today*, **1997**;2:273-282.
125. **Corral L, Haslett P, Muller GW, Chen R, Wong LM, Ocampo CJ, Patterson RP, Stirling DI, Kaplan G.** Differential cytokine modulation and T cell activation by 2 distinct classes of thalidomide analogues that are potent inhibitors of TNF- α . *J Immunol*. **1999**;163:380-386.
126. **Moreira AL, Sampaio EP, Zmuidzinas A, Frindt P, Smith KA, Kaplan G.** Thalidomide exerts its inhibitory action on tumor necrosis factor alpha by enhancing mRNA degradation. *J Exp Med*, **1993**;177:1675-1680.
127. **Sampaio EP, Sarno EN, Galilly N, Cohn ZA, Kaplan G.** Thalidomide selectively inhibits tumor necrosis factor alpha production by stimulated human monocytes. *J Exp Med*, **1991**;173:699-703.
128. **Haslett P, Corral L, Albert A, Kaplan G.** Thalidomide costimulates primary human T lymphocytes, preferentially inducing proliferation, cytokine production, and cytotoxic responses in the CD8⁺ subset. *J Exp Med*. **1998**;187:1885-1982.
129. **Geitz H, Handt S, Zwingenberger K.** Thalidomide selectively modulates the density of cell surface molecules involved in the adhesion cascade. *Immunopharmacology*. **1996**;31:213-221.
130. **Oliver S.** The Th1/Th2 paradigm in the pathogenesis of scleroderma and its modulation by thalidomide. *Curr Rheumatol Rep*. **2000**;2:486-491.
131. **Davies F, Raje N, Hideshima T, Lentzsch S, Young G, Tai YT, Lin B, Podar K, Gupta D, Chauhan D, Treon SP, Richardson PG, Schlossman GL, Morgan GJ, Muller GW, Stirling GI, Anderson KC.** Thalidomide and immunomodulatory derivatives augment natural killer cell cytotoxicity in multiple myeloma. *Blood*. **2001**;98:210-216.
132. **Singhal S, Mehta J.** Thalidomide in cancer: potential uses and limitations. *Biodrugs*, **2001**;15:163-172.
133. **Rowland TL, McHugh SM, Deighton J, Dearman RJ, Wvan PW, Kimber I.** Differential regulation by thalidomide and dexamethasone of cytokine expression in human peripheral blood mononuclear cells. *Immunopharmacology*, **1998**;40:11-20.
134. **Stephens TD, Bunde CJ, Fillmore BJ.** Mechanism of action in thalidomide teratogenesis. *Biochem Pharmacol*, **2000**;59:1489-1499.
135. **Meierhofer C, Dunzendorfer S, Wiedermann CJ.** Theoretical basis for the activity of thalidomide. *BioDrugs*, **2001**;15:681-703.
136. **Gupta D, Treon S, Shima Y, Hideshima T, Podar K, Tai YT, Lin B, Lentzsch S, Davies FE, Chauhan D, Schlossman RL, Richardson P, Ralph P, Wu L, Payvandi F, Muller G, Stirling DI, Anderson KC.** Adherence of multiple myeloma cells to bone marrow stromal cells upregulates vascular endothelial growth factor secretion: therapeutic applications. *Leukemia*. **2001**;15:1950-1961.
137. **Hideshima T, Chauhan D, Shima Y, Raje N, Davies FE, Shima Y, Tai YT, Rosen S, Avrahan S, Kharbanda S, Anderson KC.** Thalidomide and its analog overcome drug resistance of human multiple myeloma cells to conventional therapy. *Blood*. **2000**;96:2943-2950.
138. **Daimano JS, Cress AE, Hazlehurst LA, Shtil AA, Dalton WS.** Cell adhesion mediated drug resistance (CAM-DR): role of integrins and resistance to apoptosis in human myeloma cell lines. *Blood*, **1999**;93:1658-1667.

139. Haslett PA, Corral LG, Albert M, Kaplan G. Thalidomide costimulates primary human T lymphocytes, preferentially inducing proliferation, cytokines production, and cytotoxic responses in the CD8⁺ subset. *J Exp Med*, **1998**;187:1885-1892.
140. Zhau J, Schmid T, Brune T. Tumor necrosis factor-alpha causes accumulation of a ubiquitinated form of hypoxia inducible factor-1 alpha through a nuclear factor-kappaB-dependent pathway. *Mol Biol Cell*, **2003**;14:2216-2225.
141. Neben K, Moehler T, Kraemer A, Benner A, Egerer E, Ho AD, Goldsmidt H. Response to thalidomide in progressive multiple myeloma is not mediated by inhibition of angiogenic cytokine secretion. *Br J Haematol*, **2001**;115:605-608.
142. Keifer JA, Guttridge DC, Ashburner BP, Baldwin AS Jr. Inhibition of NF-kappaB activity by thalidomide through suppression of IkappaB kinase activity. *J Biol Chem*, **2001**;276:22382-22387.
143. Wang CY, Guttridge DC, Mayo MW, Baldwin AS Jr. NF-kappaB induces expression of the Bcl-2 homologue A1/Bfl-1 to preferentially suppress chemotherapy-induced apoptosis. *Mol Cell Biol*, **1999**;19:5923-5929.
144. Guttridge DC, Albanese C, Reuther JY, Pestell RG, Baldwin AS Jr. NF-kappaB controls cell growth and differentiation through transcriptional regulation of cyclin D1. *Mol Cell Biol*, **1999**;19:5785-5799.
145. Mayo MW, Baldwin AS. The transcription factor NF-kappaB: control of oncogenesis and cancer therapy resistance. *Biochim Biophys Acta*, **2000**;1470:55-62.
146. Majumdar S, Lamothe B, Aggarwal BB. Thalidomide suppresses NF-kappaB activation induced by TNF and H₂O₂, but not that activated by ceramide, lipopolysaccharides, or phorbol ester. *J Immunol*, **2002**;168:2644-2651.
147. Fujita J, Mestre JR, Zeldis JB, Subbaramaiah K, Dannenberg AJ. Thalidomide and its analogues inhibit lipopolysaccharide-mediated induction of cyclooxygenase-2. *Clin Cancer Res*, **2001**;7:3349-3355.
148. Yamada M, Kawai M, Kawai Y, Mashima Y. The effect of selective cyclooxygenase-2 inhibitor on corneal angiogenesis in the rat. *Curr Eye Res*, **1999**;19:300-304.
149. Daniel TO, Liu H, Morrow JB, Crews BC, Marnett LJ. Thromboxane A₂ is a mediator of cyclooxygenase-2-dependent endothelial migration and angiogenesis. *Cancer Res*, **1999**;59:4574-4577.
150. Sheskin J. The treatment of lepra reaction in lepromatous leprosy: fifteen years' experience with thalidomide. *Int J Dermatol*, **1980**;19:318-322.
151. Estines O, Revuz J, Wolkenstein P, Bressieux JM, Roujeau JC, Cosnes A. Sarcoidosis: thalidomide treatment in ten patients. *Ann Dermatol Venereol*, **2001**;128:611-613.
152. Knop J, Bonsmann G, Happle R, Ludolph A, Matz DR, Mifsud EJ, Macher E. Thalidomide in the treatment of sixty cases of chronic discoid lupus erythematosus. *Br J Dermatol*, **1983**;108:461-466.
153. Karim MY, Ruiz-Irastorza G, Khamashta MA, Hughes GR. Update on therapy: thalidomide in the treatment of lupus. *Lupus*, **2001**;10:188-192.
154. Atra E, Sato EI. Treatment of the cutaneous lesions of systemic lupus erythematosus with thalidomide. *Clin Exp Rheumatol*, **1993**;11:487-493.

155. Bessis D, Guillot B, Monpoint S, Dandurand M, Guilhaou JJ. Thalidomide for systemic lupus erythematosus. *Lancet*, **1992**;339:549-550.
156. Hamuryudan V, Mat C, Saip S, Oztazgan Y, Siva A, Yurdakul S, Zwinzenberger K, Yazici H. Thalidomide in the treatment of the mucocutaneous lesions of the Behçet syndrome. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med*, **1998**;128:443-450.
157. Shek LP, Lim DL. Thalidomide in Behcet's disease. *Biomed Pharmacother*, **2002**;56:31-35.
158. Wines NY, Cooper AJ, Wines MP. Thalidomide in dermatology. *Australas J Dermatol*, **2002**;43:229-238.
159. Gutierrez-Rodriguez O, Starusta-Bacal P, Gutierrez-Montes O. Treatment of refractory rheumatoid arthritis-the thalidomide experience. *J Rheumatol*, **1989**;16:158-163.
160. Ossandon A, Cassara EA, Priori R, Valesini G. Thalidomide: focus on its employment in rheumatologic diseases. *Clin Exp Rheumatol*, **2002**;20:709-718.
161. Vasiliauskas EA, Kam LY, Abreu-Martin MT, Hassard PV, Papadakis KA, Yang H, Zeldis JB, Targan SR. An open-label pilot study of low-dose thalidomide in chronically active, steroid-dependent Crohn's disease. *Gastroenterology*, **1999**;117:1278-1287.
162. Bariol C, Meagher AP; Vickers CR, Byrnes DJ, Edwards PD, Hing M, Wettstein AR, Field A. Early studies on the safety and efficacy of thalidomide for symptomatic inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol Hepatol*, **2002**;17:135-139.
163. Ehrenpreis ED, Kane SV, Cohen LB, Cohen RD, Hanauer SB. Thalidomide therapy for patients with refractory Crohn's disease: an open-label trial. *Gastroenterology*, **1999**;117:1271-1277.
164. Fife K, Howard MR, Gracie F, Phillips RH, Bower M. Activity of thalidomide in AIDS-related Kaposi's sarcoma and correlation with HHV8 titre. *Int J STD AIDS*, **1998**;9:751-755.
165. Little RF, Wyvill KM, Pluda JM, Welles L, Marshall V, Figg VD, Newcomb FM, Tosato G, Feigal E, Steinberg SM, Whitbay D, Goedert JJ, Yarchoan R. Activity of thalidomide in AIDS-related Kaposi's sarcoma. *J Clin Oncol*. **2000**;18:2593-2602.
166. Jacobson JM, Greenspan JS, Spritzler J, Ketter N, Fahey JL, Jackson JB, Fox L, Chernoff M, Wu AW, MacPhail LA, Vasques GJ, Wohl DA. Thalidomide for the treatment of oral aphthous ulcers in patients with human immunodeficiency virus infection. National Institute of Allergy and Infectious Diseases AIDS Clinical Trials Group. *N Engl J Med*, **1997**;336:1487-1493.
167. Paterson DL, Georhiou PR, Allworth AM, Kemp RJ. Thalidomide as treatment of refractory aphthous ulceration related to human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis*, **1995**;20:250-254.
168. Agoston I, Dibbs ZI, Wang F, Muller G, Zeldis JB, Mann DL, Bozkurt B. Preclinical and clinical assessment of the safety and potential efficacy of thalidomide in heart failure. *J Card Fail*, **2002**;8:306-314.
169. Chaudhry V, Cornblath DR, Corse A, Freimer M, Simmons-O'Brien E, Vogelsang G. Thalidomide-induced neuropathy. *Neurology*, **2002**;59:1872-1875.
170. Molloy FM, Floeter MK, Syed NA, Sandbrink F, Culcea E, Steinberg SM, Dahut W, Pluda J, Kruger EA, Reed E, Figg WD. Thalidomide neuropathy in patients treated for metastatic prostate cancer. *Muscle Nerve*, **2001**;24:1050-1057.
171. Singhal S, Mehta J, Desikan R, Ayers D, Roberson P, Eddlemon P, Munshi N, Anaissie E, Wilson C, Dhodapkar M, Zeddis J, Barlogie J. Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma. *N Engl J Med*, **1999**;341:1565-1571.

172. **Ghobrial IM, Rajkumar SV.** Management of thalidomide toxicity. *J Support Oncol.* **2003**;1:194-205.
173. **Horowitz SB, Stirling AL.** Thalidomid-induced toxic epidermal necrolysis. *Pharmacotherapy,* **1999**;19:1177-1180.
174. **Trojan A, Chasse E, Gay B, Pichert G, Taverna C.** Severe hepatic toxicity due to thalidomide in relapsed multiple myeloma. *Ann Oncol,* **2003**;14:501-502.
175. **Corral L, Kaplan G.** Immunomodulation by thalidomide and thalidomide analogues. *Ann Rheum Dis.* **1999**;58:1107-1113.
176. **Warren JS, Ward PA.** The inflammatory response. **In Beutler E, Lichtman MA, Collier BS, Kipps TJ, Seligsohn U (Eds),** *Williams Hematology*, 6th Ed, Part II, Ch:6, New York, McGRAW-HILL Co, **2001**; pp 67-75.
177. **Vassalli P.** The pathophysiology of tumor necrosis factor. *Annu Rev Immunol,* **1992**;10:411-452.
178. **Feldmann M, Brennan FM, Maini R.** Cytokines in autoimmune disorders. *Int Rev Immunol,* **1998**;17:217-228.
179. **Tartaglia LA, Ayres TM, Wong GHW, Goeddel DV.** A novel domain within the 55 kd TNF receptor signals cell death. *Cell,* **1993**;74:845-853.
180. **Bazzoni F, Beutler B.** The tumor necrosis factor ligand and receptor families. *New Engl J Med,* **1996**;334:1717-1725.
181. **Tracey KJ, Cerami A.** Tumor necrosis factor: a pleiotropic cytokine and therapeutic target. *Ann Rev Med.* **1994**;45:491-503.
182. **Gomez-Guerrero C, Lopez-Armada MJ, Gonzalez E, Egido J.** Soluble IgA and IgG aggregates are catabolized by cultured rat mesangial cells and induce production of TNF-alpha and IL-6, and proliferation. *J Immunol,* **1994**;153:5247-5255.
183. **Nakamura A, Johns EJ, Imaizumi A, Niimi R, Yanagawa Y, Kohsaka T.** Role angiotensin II-induced cAMP in mesangial TNF-alpha production. *Cytokine,* **2002**;19:47-51.
184. **Baud L, Oudinet JP, Bens M, Noe L, Peraldi MN, Rondeau E, Etienne J, Ardaillou R.** Production of tumor necrosis factor by rat mesangial cells in response to bacterial lipopolysaccharide. *Kidney Int,* **1989**;35:1111-1118.
185. **Neale TJ, Ruger BM, Macaulay H, Dunbar PR, Hasan Q, Bourke A, Murray-McIntosh RP, Kitching AR.** Tumor necrosis factor-alpha is expressed by glomerular visceral epithelial cells in human membranous nephropathy. *Am J Pathol,* **1995**;146:1444-1454.
186. **Noiri E, Kuwata S, Nosaka K, Tokunaga K, Juji T, Shibata Y, Kurokawa K.** Tumor necrosis factor-alpha mRNA expression in lipopolysaccharide-stimulated rat kidney. Chronological analysis of localization. *Am J Pathol,* **1994**;144:1159-1166.
187. **Jevnikar AM, Brennan DC, Singer GG, Heng JE, Maslinski W, Wuthrich RP, Glimcher LH, Kelley WE.** Stimulated kidney tubular epithelial cells express membrane associated and secreted TNF alpha. *Kidney Int,* **1991**;40:203-211.
188. **Wuthrich RP, Glimcher LH, Yui MA, Jevnikar AM, Dumas SE, Kelley WE.** MHC class II, antigen presentation and tumor necrosis factor in renal tubular epithelial cells. *Kidney Int,* **1990**;37:783-792.

189. Ortiz A, Gonzales-Cuadrado S, Bustos C, Alonso J, Homez-Guerrero C, Lopez-Armada MJ, Gonzalez E, Plaza JJ, Egido J. Tumor necrosis factor and glomerular damage. *J Nephrol*, 1995;8: 27-34.
190. Gomez-Chiarri M, Ortiz A, Lerma JL, Lopez-Armada MJ, Mampaso F, Gonzalez E, Egido J. Involvement of tumor necrosis factor and platelet activating factor in the pathogenesis of experimental nephrosis in rats. *Lab Invest*, 1994;70:449-459.
191. Noronha IL, Kruger C, Andrassy K, Ritz E, Waldherr R. In situ production of TNF-alpha, IL-I beta and IL-2R in ANCA-positive glomerulonephritis. *Kidney Int*, 1993;43:682-692.
192. Tekamura T, Yoshioka K, Murakami K, Akano N, Okada M, Aya N, Maki S. Cellular localization of inflammatory cytokines in human glomerulonephritis. *Virchows Archiv*, 1994;424: 459-464.
193. Ozen S, Saatci U, Tinaztepe K, Bakaloglu A, Barut A. Urinary tumor necrosis factor levels in primary glomerulopathies. *Nephron*, 1994;66:291-294.
194. Nikolic-Paterson DJ, Lan HY, Atkins MB. Interleukin I receptor antagonism. *Semin Nephrol*, 1996;16:583-590.
195. Ardaillou R, Baud L. Tumor necrosis factor in glomerular injury. *Contrib Nephrol*, 1996;118:59-67.
196. Tomosugi NI, Cashman SJ, Hay H, Pusey CD, Evans DJ, Shaw A, Rees AJ. Modulation of antibody-mediated glomerular injury in vivo by bacterial lipopolysaccharide, tumor necrosis factor, and IL-I. *Immunol*, 1989;142:3083-3090.
197. Egido J. Role of tumor necrosis factor- α in the pathogenesis of glomerular disease. *Kidney Int*, 1993;43:59-64.
198. McCarthy ET, Sharma R, Sharma M, Li JZ, Ge XL, Dileezpan KN, Savin VJ. TNF- α increases albumin permeability of isolated rat glomeruli through the generation of superoxide. *J Am Soc Nephrol*, 1998;9:433-438..
199. Karkar AM, Koshino Y, Cashman SJ, Dash AJ, Bonnefoy J, Meager A, Rees AJ. Passive immunization against tumour necrosis factor alpha (TNF-alpha) and IL-Ibeta protects from LPS enhancing glomerular injury in nephrotoxic nephritis in rats. *Clin Exp Immunol*, 1992;90:312-318.
200. Karkar AM, Smith J, Pusey CD. Treatment of established nephrotoxic nephritis in neutralization of TNF-alpha. *J Am Soc Nephrol*, 1998; 9:478 (Abstr.)
201. Baud L, Ardaillou R. TNF- α in renal injury. *Miner Electrolyte Metab*, 1995;21:336-341.
202. Luster MI, Simeonova PP, Gallucci R, Matheson J. Tumor necrosis factor alpha and toxicology. *Crit Rev Toxicol*, 1999;29:491-511.
203. Cho MH, Lee HS, Choe BH, Kwon SH, Chung KY, Koo JH, Ko CW. Interleukin-8 and tumor necrosis factor-alpha are increased in minimal change disease but do not alter albumin permeability. *Am J Nephrol*, 2003;23:260-266.
204. Bustos C, Gonzalez E, Muley R, Alonso JL, Egido J. Increase of tumor necrosis factor alpha synthesis and gene expression in peripheral blood mononuclear cells of children with idiopathic nephrotic syndrome. *Eur J Clin Invest*, 1994;24:799-805.
205. Suranyi MG, Guasch A, Hall BM, Myers BD. Elevated levels of tumor necrosis factor -alpha in the nephrotic syndrome in humans. *Am J Kidney Dis*, 1993;21:251-259.

206. **Lama G, Luongo I, Tirino G, Borriello A, Carangio C, Salsano ME.** T-lymphocyte populations and cytokines in childhood nephrotic syndrome. *Am J Kidney Dis*, **2002**;5:958-965.
207. **Niemir ZI, Ondracek M, Dworacki G.** In situ upregulation of TNF- α reflect the activity of human GN. *Am J Kidney Dis*, **1998**;32:80-92.
208. **Bakr A, Shokeir M, El-Chenawi F, El-Husseni F, Abdel-Rahman A, El-Ashry R.** Tumor necrosis factor- α production from mononuclear cells in nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*, **2003**; 18:516-520.
209. **Pai R, Ha H, Kirschenbaun MA, Kamana VS.** Role of tumor necrosis factor alpha on mesangial cell MCP-1 expression and monocyte migration: mechanisms mediated by signal transduction. *J Am Soc Nephrol*, **1996**;7:914-923.
210. **Drewe E, McDermott EM, Powell RJ.** Treatment of the nephrotic syndrome with Etanercept in patients with the tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome. *N Engl J Med*, **2000**; 343:1044-1045.
211. **Verschuere P, Lensen F, Lerut E, Claes K, De Vos R, Van Damme B, Westhovens R.** Benefit of anti-TNF- α treatment for nephrotic syndrome in a patient with juvenile inflammatory bowel disease associated spondyloarthritis complicated with amyloidosis and glomerulonephritis. *Ann Rheum Dis*, **2003**;62:368-369.
212. **Raveh D, Shemesh O, Ashkenazi YJ, Winkler R, Barak V.** Tumor necrosis factor- α blocking agent as a treatment for nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*, **2004**;19:1281-1284.
213. **Higuchi A, Fujisawa M, Ueno K, Kamidono S.** Elevation of urinary IL-1 β levels during transplant associated nephropathy in rat model of the nephrotic syndrome. *Urol Res*, **2002**;30:159-163.
214. **Tanaka R, Yoshika N, Nakamura H.** Infusion of peripheral blood mononuclear cells products from nephrotic children increases albuminuria in rats. *Nephron*, **1992**;60:35-41.
215. **Mahmud N, O'Connell MA, Slinson J.** TNF- α and microalbuminuria in patients with inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, **1995**;7:215-219.
216. **Patel RT, Deen KL, Youngs D, Warwick J, Keighley MR.** Interleukin 6 is a prognostic indicator of outcome in severe intraabdominal sepsis. *Br J Surg*, **1994**;81(9):1306-1308.
217. **Akima S, Taga T, Kishimoto T.** Interleukin 6 in biology and medicine. *Ad Immunol*, **1993**;54:1-78.
218. **Carl A, Edward R.** Cytokines. *Tietz textbook of Clinical Chemistry*, **1999**; 3th ed. Saunders. Philadelphia, 561-591.
219. **Tilg H, Dinarello CA, Mier JW.** IL-6 and APPs: anti inflammatory and immunosuppressive mediators. *Immunol Today*, **1997**;18:428-432.
220. **Hatzigeorgiou DE, He S, Sobel J, Granstein KJ, Hafner A, Ho JL.** IL-6 down-modulates the cytokine-enhanced anti leishmanial activity in human macrophages. *J Immunol*, **1993**;151:3682-3692.
221. **Schindler R, Mancilla J, Endres S, Ghorbani R, Clark SC, Dinarello CA.** Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in human blood mononuclear cells: IL-6 suppresses IL-1 and TNF. *Blood*, **1990**;75:40-47.
222. **Tilg H, Trehu E, Atkins MB, Dinarello CA, Mier JW.** Interleukin-6 (IL-6) as a anti-inflammatory cytokine: induction of circulating IL-1 receptor antagonist and soluble tumor necrosis factor receptor p55. *Blood*, **1994**;83:113-118.

223. Ikeda M, Ikeda U, Ohara T, Kusano E, Kano S. Recombinant interleukin-6 inhibits the growth of rat mesangial cells in culture. *Am J Pathol*, **1992**;141:327-334.
224. Horii Y, Iwano M, Hirata E, Shiiki M, Fujii Y, Dohi K, Ishikawa H. Role of interleukin-6 in the progression of mesangial proliferative glomerulonephritis. *Kidney Int-Supplement*, **1993**;39:71-115.
225. Eitner F, Westerhuis R, Burg M, Weinhold B, Grone HJ, Ostendorf T, Ruther U, Koch KM, Rees AJ, Floege J. Role of interleukin-6 in mediating mesangial cell proliferation and matrix production in vivo. *Kidney Int*, **1997**;51:69-78.
226. Karkar AM, Tam FW, Proudfoot AE, Meager A, Rees AJ. Modulation of antibody-mediated glomerular injury in vivo by interleukin-6. *Kidney Int*, **1993**;44:967-973.
227. Karkar AM, Smith J, Tam FW, Pusey CD, Rees AJ. Abrogation of glomerular injury in nephrotoxic nephritis by continuous infusion of interleukin-6. *Kidney Int*, **1997**;52:1313-1320.
228. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biologic phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*, **1972**;26:239-257.
229. Hettis SW. To die or not to die. An overview of apoptosis and its role in disease. *JAMA*, **1998**;279:300-307.
230. Alnemri ES, Livingston DJ, Nicholson DW, Salvesen G, Thornberry NA, Wong WW, Yuan J. Human ICE/CED-3 protease nomenclature. *Cell*, **1996**;87(2):171.
231. Budihardjo I, Oliver H, Lutter M, Luo X, Wang X. Biochemical pathways of caspase activation during apoptosis. *Annu Rev Cell Dev Biol*, **1999**;15:269-290.
232. Cikala M, Wilm B, Hobmayer E, Bottger A, David CN. Identification of caspases and apoptosis in the simple metazoan Hydra. *Curr Biol*, **1999**;9(17):959-962.
233. Earnshaw WC, Martins LM, Kaufmann SH. Mammalian caspases: structure, activation, substrates, and functions during apoptosis. *Annu Rev Biochem*, **1999**;68:383-424.
234. Thornberry NA, Lazebnik Y. Caspases: enemies within. *Science*, **1998**;281(5381):1312-1316.
235. Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature*, **2000**;407:770-776.
236. Wyllie AH. Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. *Nature*, **1980**;284(5756):555-556.
237. Antonsson B, Martinou JC. The Bcl-2 protein family. *Exp Cell Res*, **2000**;256(1):50-57.
238. Verhagen AM, Ekert PG, Pakusch M, Silke J, Connolly LM, Reid GE, Moritz RL, Simpson RJ, Vaux DL. Identification of DIABLO, a mammalian protein that promotes apoptosis by binding to and antagonizing IAP proteins. *Cell*, **2000**;102(1):43-53.
239. Adams JM, Cory S. Life-or-death decisions by the Bcl-2 protein family. *Trends Biochem Sci*, **2001**;26:61-66.
240. Aggarwal. BB. Tumor necrosis factor receptor associated signaling molecules and their role in activation of apoptosis. JNK and NF-kappaB. *Ann Rheum Dis*, **2000**;9:6-16.
241. Rana A, Sathyanarayana P, Lieberthal W. Role of apoptosis of renal tubular cells in acute renal failure: Therapeutic implications. *Apoptosis*, **2001**;6:83-102.

242. **Ortiz A, Alonso J, Gomez-Chiarri M, Lerma JL, Seron D, Condom E, Gonzalez E, Egido J.** Fibronectin (FN) decreases glomerular lesions and synthesis of tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha), platelet-activating factor (PAF) and FN in proliferative glomerulonephritis. *Clin Exp Immunol*, **1995**;101(2):334–340.
243. **Gomez-Chiarri M, Ortiz A, Gonzalez-Cuadrado S, Seron D, Emancipator SN, Hamilton TA, Barat A, Plaza JJ, Gonzalez E, Egido J.** Interferon-inducible protein-10 is highly expressed in rats with experimental nephrosis. *Am J Pathol*, **1996**;148(1):301–311.
244. **Savill J.** Apoptosis: a mechanism for regulation of the cell complement of inflamed glomeruli. *Kidney Int*, **1992**;41(3):607–612.
245. **Mangan DE, Wahl SM.** Differential regulation of human monocyte programmed cell death (apoptosis) by chemotactic factors and pro-inflammatory cytokines. *J Immunol*, **1991**;147(10):3408–3412.
246. **Savill J, Smith J, Sarraf C, Ren Y, Abbott F, Rees A.** Glomerular mesangial cells and inflammatory macrophages ingest neutrophils undergoing apoptosis. *Kidney Int*, **1992**;42(4):924–936.
247. **Baker AJ, Mooney A, Hughes J, Lombardi D, Johnson RJ, Savill J.** Mesangial cell apoptosis: the major mechanism for resolution of glomerular hypercellularity in experimental mesangial proliferative nephritis. *J Clin Invest*, **1994**; 94(5):2105–2116.
248. **Szabolcs MJ, Ward L, Buttyan R, D'Agati V.** Apoptosis in human renal biopsies. *J Am Soc Nephrol*, **1994**;5(3):844.
249. **Coles HSR, Burne JF, Raff MC.** Large-scale normal cell death in the developing rat kidney and its reduction by epidermal growth factor. *Development*, **1993**;118:777-784.
250. **Harrison DJ.** Cell death in the diseased glomerulus. *Histopathology*, **1988**;12(6):679–683
251. **Oyabu A, Morita H, Shinzato T, Kimata K, Yamada H, Maeda K.** Apoptosis: a candidate for the major mechanism mediating immediate mesangial cells death in thy-1 nephritis. *J Am Soc Nephrol*, **1995**;6(3):880.
252. **Shimizu A, Ishizaki M, Kitamura H, Masuda Y, Muroga K, Sugisaki Y, Yamanaka N.** Complement mediates mesangial cell apoptosis in the glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol*, **1995**;6(3):884.
253. **Oikawa T, Kakuchi J, Fogo A.** Interleukin 1 β converting enzyme (ICE) is increased in association with pathological apoptosis in the sclerotic kidney. *J Am Soc Nephrol*, **1995**;6(3):1026.
254. **Shimizu A, Nakao N, Muroga K, Kitamura H, Masuda Y, Ishizaki M, Sugisaki Y, Yamanaka N, Natori Y.** Apoptosis in progression process of experimental crescentic glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol*, **1994**;5(3):769.
255. **Sugiyama H, Kashihara N, Yamasaki Y, Sekikawa T, Okamoto K, Kanao K, Maeshima Y, Makino H, Ota Z.** Apoptosis of glomerular cells in human glomerular disease. *J Am Soc Nephrol*, **1994**;5(3):844.
256. **Thomas ME, Brunskill NJ, Haris KPG, Bailey E, Pringle JH, Furness PN, Walls J.** Proteinuria induces tubular cell turnover: A potential mechanism for tubular atrophy. *Kidney Int*, **1999**;55:890-898.
257. **Hebert LA, Agarwal G, Sedmak DD, Mahan JD, Becker W, Nagaraja HN.** Proximal tubular epithelial hyperplasia in patients with chronic glomerular proteinuria. *Kidney Int*, **2000**;57:1962-1967.

258. **Weening JJ, Rennke HG.** Glomerular permeability and poly-anion in Adriamycin nephrosis in the rat. *Kidney Int*, **1983**;24:152-159.
259. **Büyükçelik M, Anarat A.** Endotelin reseptör antagonistinin (Bosentan) deneysel nefrotik sendrom modelinde apoptoz üzerine etkisi. *Yan Dal Uzmanlık Tezi*. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adana, **2005**.
260. **Yeh TS, Ho YP, Huang SF, Yeh JN, Jan YY, Chen MF.** Thalidomide salvages lethal hepatic necroinflammation and accelerates recovery from cirrhosis in rat. *J Hepatol*, **2004**;41:606-612.
261. **Mangili F, Cigala C, Santambrogio G.** Staining apoptosis in paraffin sections. Advantages and limits. *Anal Quant Cytol Hystol*, **1999**; 21(3):373-376.
262. **Toblli JE, Ferder L, Stella I, Angerosa M, Inserra F.** Enalapril prevents fatty liver in nephrotic rats. *J Nephrol*, **2002**;15(4):358–367.
263. **Ozen S, Usta Y, Sahin-Erdemli I, Orhan D, Gumusel B, Yang B, Gursay Y, Tulunay O, Dalkara T, Bakkaloglu A, El-Nahas M.** Association of nitric oxide production and apoptosis in a model of experimental nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*, **2001**;16(1):32–38.
264. **Pedrycz A, Wieczorski M, Czerny K.** Pseudoductules in the rat liver in experimental adriamycin-induced nephrotic syndrome. *Ann Univ Mariae Curie Sklodowska [Med]*, **2002**;57(1):154–160.
265. **Hatzigeorgiou DE, He S, Sobel J, Granstein KJ, Hafner A, Ho JL.** IL-6 down-modulates the cytokine-enhanced anti leishmanial activity in human macrophages. *J Immunol*, **1993**;151(7):3682-3692.
266. **Prakash O, Medhi B, Saikia UN, Pandhi** Effect of different doses of thalidomide in experimentally induced inflammatory bowel disease in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, **2008**;103(1):9-16.
267. **Horii Y, Muraguchi A, Iwano M, Matsuda T, Hirayama T, Yamada H, Fujii Y, Dohi K, Ishikawa H, Ohmoto Y.** Involvement of IL-6 in mesangial proliferative glomerulonephritis. *J Immunology*, **1989**;143(12):3949-3955.
268. **Usta Y, Ismailoglu UB, Bakkaloglu A, Orhan D, Besbas N, Sahin-Erdemli I, Ozen S.** Effects of pentoxifylline in Adriamycin-induced renal disease in rats. *Pediatr Nephrol*, **2004**;19(8):840–843.
269. **Karkar AM, Smith J, Pusey CD.** Prevention and treatment of experimental crescentic glomerulonephritis by blocking tumour necrosis factor –alpha. *Nephrol Dial Transplant*, **2001**;16: 518-524.
270. **Karkar AM, Tam FW, Steinkasserer A, Kurrle R, Langner K, Scallon BJ, Meager A, Rees AJ.** Modulation of antibody-mediated glomerular injury in vivo by IL-Ira, soluble IL-I receptor, and soluble TNF receptor. *Kidney Int*, **1995**;48:1738-1746.
271. **Bertani T, Abbate M, Zoja C, Corna D, Perico N, Ghezzi P, Remuzzi G.** Tumor necrosis factor induces glomerular damage in the rabbits. *Am J Pathol*, **1989**;134(2):419-430.
272. **Tomosugi NI, Cashman SJ, Hay H, Pusey CD, Evans DJ, Shaw A, Rees AJ.** Modulation of antibody-mediated glomerular injury in vivo by bacterial lipopolysaccharide, tumor necrosis factor and IL-1. *J Immunol*, **1989**;142(9):3083-3090.
273. **Ortiz A, Gomez-Chiarri M, Quiros J, Lobe-Armada MJ, Alonso J, Gonzales E, Egido J.** Exogenous fibronectin modifies tumour necrosis factor and fibronectin gene expression and

- catabolism of immune complexes in proliferative glomerulonephritis (Abstract). *Nephrol Dial Transplant*, **1992**;7:676.
274. Shimoyama H, Nakajima M, Naka H, Maruhashi Y, Akazawa H, Ueda T, Hishiguchi M, Yomato Y, Kamitsuji H, Yoshioka A. Up-regulation of interleukin-2 mRNA in children with idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*, **2004**;19:1115-1121.
 275. Tsang WP, Ho FY, Fung KP, Kong SK, Kwok TT. p53-R175H mutant gains new function in regulation of doxorubicin-induced apoptosis. *Int J Cancer*, **2005**;114(3):33-336.
 276. Wu XX, Mizutani Y, Kakehi Y, Yoshida O, Ogawa O. Enhancement of Fas-mediated apoptosis in renal cell carcinoma cells by adriamycin. *Cancer Res*, **2000**;60(11):2912-2918.
 277. van de Water B, Houtepen F, Huigsloot M, Tijdens IB. Suppression of chemically induced apoptosis but not necrosis of renal proximal tubular epithelial (LLC-PK1) cells by focal adhesion kinase (FAK). Role of FAK in maintaining focal adhesion organization after acute renal cell injury. *J Biol Chem*, **2001**;276(39):36183-36193.
 278. Usta Y, Ismailoglu UB, Bakkaloglu A, Orhan D, Besbas N, Sahin-Erdemli I, Ozen S. Effects of pentoxifylline in Adriamycin-induced renal disease in rats. *Pediatr Nephrol*, **2004**;19(8):840-843
 279. Kikuchi H, Kawachi H, Ito Y, Matsui K, Nosaka H, Saito A, Orikasa M, Arakawa M, Shimizu F. Severe proteinuria, sustained for 6 months, induces tubular epithelial cell injury and cell infiltration in rats but not progressive interstitial fibrosis. *Nephrol Dial Transplant*, **2000**;15:799-810.
 280. Remuzzi G, Bertani T. Pathophysiology of progressive nephropathies. *N Engl J Med*, **1998**;339:1448-1456.
 281. Zoja C, Benigni A, Remuzzi G. Protein overload activates proximal tubular cells to release vasoactive and inflammatory mediators. *Exp Nephrol*, **1999**;7:420-428.
 282. Hori Y, Yamada K, Hanafusa N, Okuda T, Okada N, Miyata T, Couser WG, Kurokawa K, Fujita T, Nangaku F. Crry, a complement regulatory protein, modulates renal interstitial disease induced by proteinuria. *Kidney Int*, **1999**;56(6):2096-2106.
 283. Eddy AA, McCulloch L, Liu E, Adams J. A relationship between proteinuria and acute tubulointerstitial disease in rats experimental nephrotic syndrome. *Am J Pathol*, **1991**;138:1111-1123.
 284. Greco BA, Breyer JA. Cholesterol as a predictor of progression in nondiabetic chronic renal disease. *Contrib Nephrol*, **1997**;120:48-61.
 285. Joles JA, Rabelink TJ, Koomans HA. Role of lipids in progressive renal disease: Insight of the analbuminemic rats. *Contrib Nephrol*, **1997**;120:120-131.
 286. Keane WF, Kasiske BL, O'Donnell MP. The role of lipids in progressive glomerular disease. *Adv Exp Med Biol*, **1987**;223:81-87.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Mustafa SORAN

Doğum Tarih ve Yeri : 02.12.1968 ŞANLIURFA

Medeni Durumu : Evli

Adres : Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Nefrolojisi Bilim Dalı. 01130,Balcalı/ADANA.

Telefon : 322 338 60 60/3088

Fax : 322 338 69 35

E.mail : msoran68@yahoo.com

Mezun Olduğu Tıp Fakültesi : Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi

Varsa Mezuniyet Derecesi :

Görev Yerleri :Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi

Dernek Üyelikleri : Milli Pediatri Derneği
Çocuk Nefroloji Derneği
Çocuk Romatoloji Derneği

Alınan Burslar :

Yabancı Dil(ler) : İngilizce

Diğer Hususlar :