

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

**NEFROTİK SENDROMLU ÇOCUKLARDA NİTRİK
OKSİT ASİMETRİK DİMETİLARJİNİN DÜZEYLERİ VE
KAROTİS İNTİMA- MEDIA KALINLIĞI**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ
Dr. SEYİTHAN YALINKILIÇ**

DİYARBAKIR-2011



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

**NEFROTİK SENDROMLU ÇOCUKLARDA NİTRİK
OKSİT ASİMETRİK DİMETİLARJİNİN DÜZEYLERİ VE
KAROTİS İNTİMA- MEDIA KALINLIĞI**

**Dr. SEYİTHAN YALINKILIÇ
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**Yrd. Doç. Dr. SELVİ KELEKÇİ
TEZ DANIŞMANI**

**Bu tez, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü
(DÜBAP) tarafından
10-TF-19 Proje numarası ile desteklenmiştir**

DİYARBAKIR-2011

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli hocalarım; Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Y. Kenan HASPOLAT, diğer hocalarım Prof. Dr. M. Ali TAŞ, , Prof. Dr. Celal DEVECİOĞLU, Prof. Dr. Murat SÖKER, Prof. Dr. M. Fuat GÜRKAN, Prof. Dr. Aydın ECE, Prof. Dr. Ahmet YARAMIŞ, Yrd. Doç. Dr. Ayfer GÖZÜ PİRİNÇÇİOĞLU, Yrd. Doç. Dr. Mustafa TAŞKESEN, Yrd. Doç. Dr. Selvi KELEKÇİ, Yrd. Doç. Dr. Ali GÜNEŞ, Yrd. Doç. Dr. Servet YEL, Yrd. Doç. Dr. İlyas YOLBAŞ' a şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmamın planlaması, yönlendirilmesi ve hazırlanmasında katkılarından dolayı tez hocam Yrd. Doç. Dr. Selvi KELEKÇİ' ye ve tezin istatistiksel olarak değerlendirilmesi aşamasında bilgilerinden faydalandığım Prof. Dr. Aydın ECE' ye en içten dileklerle teşekkür ederim.

Bunun yanında, tezimin her aşamasında benden desteğini ve hoşgörüsünü esirgemeyen fedakâr eşim Buket YALINKILIÇ, biricik kızım Livanur Duru YALINKILIÇ, abim Dr. Yaşar YALINKILIÇ ve aileme, dört yıl boyunca mesai ve nöbetlerde pek çok şeyi paylaştığım tüm doktor arkadaşlarıma, ayrıca kliniğimizin hemşire ve personellerine en içten dileklerle teşekkür ederim.

Aralık-2011

Dr. Seyithan YALINKILIÇ
DİYARBAKIR

ÖZET

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. İmmün mekanizmaların, enfeksiyöz ajanların ve artmış inflamatuvar reaksiyonun nefrotik sendrom etyolojisinde sorumlu olduğu düşünülmektedir. Etyopatogeneizde suçlanan önemli faktörlerden biride endotel disfonksiyonudur.

Endotel disfonksiyonu, vazodilatasyonda etkili nitrik oksit yapımında azalmaya neden olur ve ateroskleroz gelişiminde önemli rol oynar. Nefrotik sendromlu hastalarda endotel disfonksiyonu ile endotelden salınan NO (Nitrik oksit), nitrik oksit sentetaz inhibitörü olan ADMA (Asimetrik dimetilarginin) ve distal karotis İMK (İntima media kalınlık)' lığı, sağlıklı çocukla karşılaştırıldığında önemli farklar oluşturmaktadır. Nefrotik sendromda kolesterol, trigliserid, fosfolipid ve yağ asitlerinin plazma konsantrasyonu artışı, endotel disfonksiyonuna, intima media kalınlığının ve kardiovasküler komplikasyonların artışına neden olmaktadır.

Çalışma grubu Ocak 2010 - Haziran 2011 tarihleri arasında DÜTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Nefroloji Polikliniğine başvuran 27 ilk tanı-relaps nefrotik sendrom ve kontrol grubu olarak çalışılan 25 sağlıklı çocuktan oluşturulmuştur. Çalışmamızda, çocukların yaş ve cinsiyeti sorgulanıp, kan basınçları, boyları ve vücut ağırlıkları ölçüldü. Çalışmaya katılan çocuklardan kan örnekleri alınarak hemogram, üre, kreatinin, albumin, kalsiyum, fosfor, alkalin fosfat, ürik asit, parathormon, glomerüler filtrasyon hızı, lipit profili, ferritin, B12 vitamin, folik asit, hs-CRP, ADMA ve NO düzeyleri ölçüldü. Hasta ve sağlıklı kontrol grubunun ultrasonografik olarak distal karotis İMK' ları değerlendirildi.

Nefrotik sendromlu grupta; ultrasonografik değerlendirme sonucu sağ karotis İMK $0,363 \pm 0,083$ cm ve sol karotis İMK $0,374 \pm 0,093$ cm olarak ölçüldü. Kontrol grubunda; ultrasonografik değerlendirme sonucu sağ karotis İMK $0,267 \pm 0,048$ cm ve sol karotis İMK $0,281 \pm 0,068$ cm olarak ölçüldü. Nefrotik sendromlu grupta; ADMA düzeyi $0,661 \pm 0,316$ $\mu\text{mol/L}$, NO düzeyi $14,42 \pm 8,35$ μM idi. Kontrol grubunda; ADMA düzeyi $0,924 \pm 0,564$ $\mu\text{mol/L}$, NO düzeyi $8,96 \pm 4,46$ μM idi. Bu çalışma gösteriyor ki nefrotik sendromlu çocuklarda; NO sentezi ve distal karotis

İMK'lık ölçümü artmakta, ADMA düzeyi kontrol grubuna göre önemli farklılık göstermemektedir.

Nefrotik sendromlu çocuk hastaların plazmada değişen NO, ADMA gibi biyobelirteç düzeyi ve distal karotis İMK'lığı ölçülerek, nefrotik sendromlu çocuk hastaların endotel disfonksiyonu, kardiovasküler morbidite ve mortalite nedenleri erken dönemde tespit edilerek, komplikasyonların azaltılmasına yönelik tedavi ve önlemlerin alınmasının nefrotik sendromlu çocuk hastaların prognozuna önemli katkı sağlayabileceği düşünüldü.

Anahtar kelimeler: Nefrotik sendrom, Nitrik oksit, Asimetrik dimetilarginin, İntima media kalınlığı.

ABSTRACT

Nephrotic syndrome is a clinical disease which is characterized by massive proteinuria that occurs as a result of an increase in permeability in glomerular filtration barrier; which causes hypoproteinemi, oedema and hyperlipidemia. It is thought that immunologic mechanisms, infectious agents and increased inflammatory reactions are responsible for the etiology of nephrotic syndrome. One of the important factors that is accused of being a reason of etiopathogenesis is endothelial dysfunction.

Endothelial dysfunction causes a decrease in the synthesis of nitric oxide which is effective in vasodilatation and has a main role in the development of atherosclerosis. The NO (nitric oxide) which is produced by endothelial dysfunction, ADMA (asymmetric dimethylarginine) which is the inhibitor of NOS (nitric oxide synthase) and the distal carotis intimal media thickness in patients with nephrotic syndrome are importantly different from the healthy children. The elevation in plasma concentration of cholesterol, trigliserid, fosfolipid and fat acids results with endothelial dysfunction, increase in cardiovascular complications and intima media thickness.

Our study group consist of 27 patients with NS and control group consists of 25 healthy children that referred to Dicle University Department of Pediatric Nefrology Polyclinic from 2010 January to 2011 July. In our study, the age and sex of children, and their blood pressure, height and body weight have been recorded. By taking blood samples from children; complete blood count, urea, creatinine, albumin, calcium, phosphorus, uric acid, alkalen phospatase, parathormone, lipid profile, ferritine, vitamin B12, folic acid, hs-CRP, ADMA and NO levels have been measured and their glomerular filtration rate have been calculated. Distal carotis IMK of patient and healthy groups has been ultrasonographically measured.

In the group with NS, after ultrasonographic measurements, right carotis IMK is measured as $0,363 \pm 0,083$ cm and left carotis IMK is measured as $0,374 \pm 0,093$ cm. In the control group, after ultrasonographic measurements, right carotis IMK is measured as $0,267 \pm 0,048$ cm and left carotis IMK is measured as $0,281 \pm 0,068$ cm. In the group with NS; the ADMA level is found as $0,924 \pm 0,564$ umol/L,

NO level is found as $8,96 \pm 4,46 \mu\text{M}$. Our study suggests that in children with NS, NO synthesis and distal carotis IMK have been increased and the level of ADMA hasn't shown a significant difference in comparison with the control group.

It has been thought that, in children with NS the diagnosis of endothelial dysfunction and investment of the reasons of cardiovascular morbidity and mortality in early phase by measuring the level of NO, ADMA and distal carotis IMK; and taking precautions for decreasing the complications, may assist children with their prognosis.

Keywords: Nephrotic syndrome, nitric oxide, asymmetric dimethylarginine, intimal media thickness.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no</u>
Önsöz.....	i
Özet	ii
İngilizce Özet (Abstract)	iv
Tablolar.....	viii
Şekiller.....	ix
Kısaltmalar.....	x
1. Giriş ve Amaç.....	1
2. Genel Bilgiler.....	3
2.1. Nefrotik Sendrom	4
2.1.1. Klinik Sınıflandırma.....	4
2.1.2. Histopatolojik Sınıflandırma	5
2.1.3. Tedaviye Cevaba Göre Sınıflandırma	7
2.2. Çocukluk Çağı Ateroskleroz Gelişimine Etki Eden Faktörler	15
2.3. Nitrik Oksit	18
2.4. Asimetrik Dimetilarginin.....	21
2.5. Karotis Arter İntima-Media Kalınlığı.....	23
3. Gereç ve Yöntem	25
3.1. Çalışma Grubunun Seçimi	25
3.2. Kan Örneklerinin Alınması ve Ölçümleri.....	25
3.3. Kullanılan Yöntemler	26
3.3.1. NO Düzeyi Ölçümü.....	26
3.3.2. ADMA Düzeyi Ölçümü.....	26
3.3.3. Karotis İntima-Media Kalınlığının Ölçümü	27
3.4. İstatistiksel Analiz	27
4. Bulgular	28
4.1. Hasta ve Kontrol Grubunun Antropometrik Ölçümleri, Kan Basıncı ve İntima Media Kalınlıkları	28
4.2. Hasta ve Kontrol Grubunun Serum Biyokimyasal Değerleri	31
4.3. Hasta ve Kontrol Grubunun ADMA, NO, GFR, hs-CRP, PTH, Ferritin, Folik Asit ve B12 Vitamini	35

4.4. Hasta ve Kontrol Grubunun Tam Kan Sayımı	39
5. Tartışma.....	40
6. Sonuçlar	45
7. Kaynaklar	47

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
Tablo 1. Nefrotik sendromun klinik sınıflandırması.....	5
Tablo 2. Glomerüler lezyonların histopatolojik sınıflandırması	6
Tablo 3. Normal ve nefrotik proteinüri tanımı	10
Tablo 4. Ateroskleroz risk faktörleri	16
Tablo 5. Hasta ve kontrol grubunun antropometrik ölçümleri, kan basıncı değerleri ve intima media kalınlıkları	28
Tablo 6. Nefrotik sendrom bulunan çocuklar ile kontrol grubu serum biyokimyasal değerlerinin karşılaştırılması.....	31
Tablo 7. Hasta ve kontrol grubu serum asimetrik dimetilarjinin ve nitrik oksit düzeyleri, glomerüler fitrasyon hızları, yüksek duyarlı C-reaktif protein, parathormon, ferritin, B12 vitamini ve folik asit düzeyleri.....	36
Tablo 8. Hasta ve kontrol grubu tam kan sayımı sonuçlarının karşılaştırılması...	39

ŞEKİLLER

Sayfa no

Şekil 1. Nefrotik sendromlu hastalar ile sağlıklı kontrol grubu çocuklarda cinsiyet dağılımı	29
Şekil 2. Nefrotik sendromlu ve sağlıklı kontrollerde karotis intima media kalınlığı ortalama değerleri	30
Şekil 3. Serum LDL-K ve HDL-K ortalama düzeylerinin hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması	32
Şekil 4. Hasta ve kontrol gruplarında serum TC ve TG düzeyleri	33
Şekil 5. Nefrotik sendromun akut dönemi ve sağlıklı kontrollerde serum kalsiyum ve fosfor düzeyleri	35
Şekil 6. ADMA düzeyleri	37
Şekil 7. NO düzeyleri.....	38

KISALTMALAR

ADMA: Asimetrik Dimetilarjinin

AMP: Adenozin Monofosfat

ANP: Atrial Natriüretik Peptit

APSGN: Akut Poststreptokoksik Glomerülonefrit

Ca²⁺: Kalsiyum

DDAH: Dimetil Arjinin Dimetil Aminohiolaz

FAD: Flavin Adenin Dinükleotid

FMN: Flavin Mononükleotid

FSGS: Fokal Segmental Glomeruloskleroz

EDRF: Endothelium- Derived Relaxing Factor (Endotel Kökenli Gevşeme Faktörü)

GBM: Glomerül Bazal Membranı

GFR: Glomerüler Filtrasyon Hızı

GMP: Guanozin Monofosfat

hs-CRP: Yüksek Duyarlı C Reaktif Protein

HDL: Yüksek Dansiteli Lipoprotein

IMK: İntima-Media Kalınlığı

IDL: Ara Dansiteli Lipoprotein

LDL: Düşük Dansiteli Lipoprotein

L-NMA: NG-monometil-L-arjinin

MAT: Metiyonin Adenozil Transferaz

MezPGN: Mezangial Proliferatif Glomerulonefrit

MGN: Membranöz Glomerulonefrit

MLH: Minimal Lezyon Hastalığı

MPGN: Membranoproliferatif Glomerulonefrit

NADP: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat

NO: Nitrik Oksit

NOS: Nitrik Oksit Sentaz

NS: Nefrotik sendrom

PTH: Parathormon

SAH: S-Adenozil Homosistein

SAM: S-Adenozil Metiyonin

SDMA: Simetrik Dimetilarjinin

SRNS: Steroide Dirençli Nefrotik Sendrom

SSNS: Steroide Cevaplı Nefrotik Sendrom

USG: Ultrasonografi

VA: Vücut Ağırlığı

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Nefrotik sendrom (NS) 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). Çocukluk çağı nefrotik sendromların 2/3' ü 5 yaşından önce başlayıp, %80-85' ini minimal lezyon hastalığı (MLH) oluşturur (1-3). Nefrotik sendrom klinik görünüm, histopatolojik lezyon ve steroid tedavisine verdiği cevaba göre sınıflandırılır (2). Nefrotik sendrom oluşumuna göre primer ve sekonder nefrotik sendrom olarak iki ana grupta incelenir. Primer nefrotik sendromda olay izole olarak böbrekte olup, en sık karşılaşılan tip MLH' dir ve steroide yanıtı iyidir. MLH dışı glomerülonefritler de steroide MLH' dan daha düşük oranda yanıt vermektedir (1,2,4,5). Primer nefrotik sendrom, idyopatik NS "minimal lezyon hastalığı, fokal seğmental glomerülosklerozis, mezengioproliferatif glomerülonefrit", membranöz glomerülonefrit, immunkompleks glomerülonefritler "akut poststreptokoksik glomerülonefrit, membranoproliferatif glomerülonefrit" ve konjenital NS' dan oluşur (1,2). Sekonder NS ise nefrotik sendrom sistemik bir hastalık ya da bir olaya ikincil olarak gelişir (1,2,4,5). Deneysel çalışmalarda kullanma amacıyla geliştirilen nefrotik sendrom modelleri de mevcuttur.

İmmün mekanizmaların, enfeksiyöz ajanların ve artmış inflamatuvar reaksiyonun nefrotik sendrom etyolojisinde sorumlu olduğu düşünülmektedir. Etyopatogenezde suçlanan önemli faktörlerden biride endotel disfonksiyonudur. (6-8).

Endotel disfonksiyonunda düzeyi azalan NO (Nitrik Oksit) arteroskleroz gelişimine zemin hazırlamaktadır. Endotel kökenli nitrik oksit bilinen en güçlü endojen vazodilatördür. NO endotelden, birçok nörohormonal ajanlara veya fiziksel kuvvetlere yanıt olarak salgılanır. Mononükleer hücrelerin bozulmuş davranışlarından sorumlu moleküler sinyal mekanizmaları muhtemelen çok faktörlüdür ve inflamatuvar sitokinleri, LDL (Düşük Yoğunluklu Lipoprotein) kolesterolü, platelet aktive edici faktörü, dolaşımdaki çözünür adezyon moleküllerini ve endotel kökenli nitrik oksitin azalmış biyoaktivitesini içermektedir. Tüm bu olası

mekanizmaların sonucunda ortaya çıkan tablo ise endotel fonksiyonlarında giderek artan kayıptır.

Dimetilarjininler, metilenmiş proteinlerin yıkımı sonucu oluşurlar. Asimetrik Dimetilarjinin (ADMA) endojen Nitrik Oksit Sentetaz (NOS) enzimi inhibitörüdür. ADMA' nın kan düzeyi artıkça nitrik oksit sentezi azalmaktadır. ADMA' nın endotel disfonksiyonu ve arterosklerozda rol aldığı ve belirteç olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.

Nefrotik sendromlu çocukların tanı kriterleri arasında hiperlipidemi ve hiperkolestrolemi bulunmaktadır. Hastalarda hiperlipidemi ve hiperkolestrolemi endotel disfonksiyonu, kardiovasküler komplikasyonlara ve mortaliteye neden olabilmektedir.

Aterosklerozun, çocukluk çağında kolesterol ve esterlerinin geniş müküller ve elastik arterlerin intimalarındaki makrofajlarda birikimleri ile başladığını bilinmektedir. Bu erken lezyonlar yağlı çizgilenmeler olarak bilinirler ve zararsızdırlar. Ancak bazı bireylerde ve belirli arter bölgelerinde lipit birikmeye devam eder ve ekstrasellüler hale gelir. Bu aşamada makrofajların sayısı artar, düz kas ile bağ dokusu proliferasyon olarak fibromüküller bir başlık oluşturmaya çalışır. İntimanın üzerine çıkan bu lezyona fibröz plak veya kabarık lezyon denir. Daha sonraki yıllarda kabarık lezyonlar boyut ve uzanım olarak büyürler ve arterin lümenine ulaşırlar. Fibromüküller başlık kırılabilir hale gelir ve yırtılmaya yüz tutar, altındaki lipitten zengin nekrotik debrisini kana vermeye başlar. Bir plak yırtıldığında trombüs oluşur ve lümeni tıkayarak tutulan organın iskemisine neden olur. Bu olay koroner arterlerde oluşursa sonuç koroner arter hastalığı (anjina, miyokard enfarktı, ani kardiyak ölüm), karotis veya serebral arterlerde oluşursa inme, bacakları arterlerde oluşursa gangrene neden olur.

Distal ana karotis arterde İMK (İntima Media Kalınlığı)' nın non-invazif B-mode USG (Ultrasonografi) ile ölçümü klinik koroner hadiseler için iyi bir belirteçtir, aterosklerozun ilerlemesini ve gerilemesini takip için epidemiyolojik ve klinik çalışmalarda kullanılan non-invazif bir yöntemdir. Risk faktörü olan çocuklarda yapılan ultrasonografik çalışmalarda aterosklerotik damar kalınlaşmaları gösterilmiştir. Bu nedenle nefrotik sendromlu çocuk hastaların, kardiyovasküler

açidan morbidite ve mortaliteyi erken dönemde tespit etmede, İMK artışı ek bir belirteç olarak kabul edilebilir.

Çalışmamızda, ilk tanı-relaps nefrotik sendromlu hasta grubu ile kontrol grubunda NO, ADMA ve sağ-sol distal karotis İMK çalışılarak, nefrotik sendromun tanısında ve izlenmesinde kullanılan rutin yöntemlerin yanı sıra endotel disfonksiyonunu gösteren bu biyobelirteçlerin kullanılabilirliği göstermek amaçlandı.

Bununla beraber ilk tanı-relaps nefrotik sendromlu hasta grubu ile kontrol grubunun antropometrik ölçümleri, bazı biyokimyasal parametreleri, lipit profili ve tam kan sonuçları irdelendi.

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 adolesan dönemde eşit, siyah ırkta beyaza göre daha fazla görüldüğü bildirilmektedir (1,3,4). Çocukluk çağı NS' ların 2/3' ü 5 yaşından önce başlayıp, %80-85' ini minimal lezyon hastalığı (MLH) oluşturur (1–3).

Sınıflandırma

Nefrotik sendrom klinik görünüm, histopatolojik lezyon ve steroid tedavisine verdiği cevaba göre sınıflandırılır (2).

2.1.1. Klinik Sınıflandırma

Nefrotik sendrom oluşumuna göre primer ve sekonder NS olarak iki ana grupta incelenir. Primer NS' da olay izole olarak böbrekte olup, en sık karşılaşılan tip MLH' dir ve steroide yanıtı iyidir. MLH dışı glomerülo nefritler de steroide MLH' dan daha düşük oranda yanıt vermektedir (1,2,4,5). Primer nefrotik sendrom, idyopatik NS “minimal lezyon hastalığı, fokal segmental glomerülosklerozis, mezengioproliferatif glomerülo nefrit”, immunkompleks glomerülo nefritler “akut poststreptokoksik glomerülo nefrit, membranöz glomerülo nefrit membranoproliferatif glomerülo nefrit” ve konjenital nefrotik sendromdan oluşur (1,2). Sekonder nefrotik sendrom, sistemik bir hastalık ya da bir olaya ikincil olarak gelişir (1,2,4,5) (Tablo 1). Deneysel çalışmalarda kullanma amacıyla geliştirilen deneysel nefrotik sendrom modelleri de mevcuttur (6–8).

Tablo 1. Nefrotik sendromun klinik sınıflandırması (5).

<p>I- Primer NS</p> <p>İdyopatik NS</p> <p>Minimal lezyon hastalığı (MLH)</p> <p>Mezengial proliferatif glomerülonefrit (MezPGN)</p> <p>Fokal glomerülosklerozis (FGS)</p> <p>İmmünkompleks glomerülonefrit</p> <p>Membranöz glomerülonefrit (MGN)</p> <p>Membranoproliferatif glomerülonefrit (MPGN)</p> <p>Akut poststreptekoksik glomerülonefrit (APSGN)</p> <p>Konjenital NS</p>
<p>II-Sekonder NS</p> <p>Sistemik hastalıklar: Henoch-Schönlein purpurası, Sistemik lupus eritematozis (SLE), Vaskülitler, Goodpasture sendromu, Amiloidoz, Sarkoidoz, Romatoid artrit, Dermatomiyozit.</p> <p>Sistemik enfeksiyonlar: Hepatit B, Konjenital ve sekonder sifiliz, Şant enfeksiyonu, Bakteriyel endokardit, Sıtma, Varisella, HIV, Poststreptekoksik glomerülonefrit, Lepra, Şistozomiazis, İnfeksiyöz mononükleoz</p> <p>Heredofamilyal hastalıklar: Orak hücreli anemi, Diabetes mellitus, Alport sendromu, Nail patella sendromu.</p> <p>İlaçlar: Altın tuzları, Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID), Tridion, Kaptopril, Eroin, D-penisilamin, Civa bileşikleri.</p> <p>Neoplaziler: Hodgkin hastalığı, Lenfomalar, Lösemiler, Karsinomalar, Melanomlar, Wilms tümörü</p> <p>Diğerleri: Arı sokması, Aşılama, Tiroidit, Miksödem, Malign obesite</p>

2.1.2. Histopatolojik Sınıflandırma

Histopatolojik sınıflandırma, ışık mikroskopunda görülen glomerüler değişikliklere göre yapılmaktadır (9). Bu ayırım daha sonra immünoflöresan ve elektron mikroskopik incelemelerle desteklenmiştir. NS' un histopatolojik sınıflandırması Tablo 2' de verilmiştir.

Tablo 2. Glomerüler lezyonların histopatolojik sınıflandırması (10).

1. Minimal Lezyon Hastalığı (MLH)
2. Fokal Glomerülosklerozis (FGS) <ul style="list-style-type: none">• Fokal Segmental Glomerülosklerozis (FSGS)• Fokal Global Glomerülosklerozis (FGGS)
3. Mezengial Proliferasyon (MezPGN) <ul style="list-style-type: none">• Pür Diffuz Mezengial Proliferasyon• Sklerozan Glomerülonefrit
4. Membranoproliferatif Glomerülonefrit (MPGN) <ul style="list-style-type: none">• Tip-I MPGN; Subendotelial depolanma• Tip-II MPGN; İntramembranöz dens depozitler• Tip-III MPGN; Transmembranöz depolanma
5. Membranöz Glomerülonefrit (MGN)
6. Kronik Glomerülonefrit

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. İmmunflöresan mikroskopta genellikle immundepozit birikimi yoktur. Ancak nadir de olsa IgM ve komplemandan oluşan mezengial depolanma bulunabilir. Elektron mikroskopta podositlerde hipertrofi ile foot süreçlerinde genişleme gözlenir (1,2,9,10).

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 dir. 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 (2,4,9-11).

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 fibroepitelyal 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 (2,9,10).

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 (9,10,12).

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 (13,14).

2.1.3. Tedaviye Cevaba Göre Sınıflandırma

Nefrotik sendrom steroid tedavisine verdiği cevaba göre steroide cevaplı (SSNS) ve steroide dirençli (SRNS) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır(1). Steroide direnç, düzenli olarak 6–8 hafta boyunca alınan 60 mg/m²/gün bölünmüş dozlarda prednisolon tedavisine rağmen, masif proteinürinin (≥ 40 mg/m²/h) devam etmesidir (1,4,14). En sık görülen idiopatik NS nedeni olan MLH steroide % 85–90 oranında cevap verirken, bu oran FSGS'de % 30, MGN de ise % 5' e kadar düşmektedir (1,2,16,17). Başlangıçta steroide cevap verirken izlemde cevapsız olan vakalar ise sekonder dirençli olgular olarak tanımlanmaktadır (1,4,5,18).

Nefrotik Sendromun Patofizyolojisi

Filtrasyon bariyerinde geçirgenlik artışı ile ortaya çıkan proteinüri NS gelişmesinde primer sorumlu patofizyolojik mekanizmadır (2). 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 sonucudur (3).

Proteinüri: Çocuklarda $40\text{mg}/\text{m}^2/\text{h}$ ' un üstünde yetişkinlerde ise $3,5\text{ gr}/24$ saatten fazla protein atımı nefrotik proteinüri kabul edilir (1,2,9). 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 yanısıra 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 taşımaya 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 bulgusudur (1–3). 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 olabilir (48). Hipoalbümineminin şiddeti hastadan hastaya değişiklik göstermektedir. Relaps sırasında serum albumin seviyesi 0,5 gr/dl ile 2,5 gr/dl arasında değişmektedir (42,43). Plazmadaki diğer protein anormallikleri gama globülinde azalma, normal veya düşük alfa1-globülin, alfa 2 ve beta globülin ile fibrinojen seviyesinde artıştır. Alfa 2-globulin seviyesindeki artışın birikime bağlı olduğu düşünülmektedir. MLH başta olmak üzere NS' lu hastalarda IgG seviyesi azalırken IgM seviyesi artmaktadır (3,5,9,10).

Ödem: NS' un temel klinik bulgusudur (1,2,5,9,10). Klasik olarak NS' da görülen ödem, hipoalbüminemi 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 (9,10). 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 (9,10). 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 (19-22).

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 bağlıdır (23).

Hiperlipidemi ve Hiperlipoproteinemi: NS' da kolesterol, trigliserid, fosfolipid ve yağ asitlerinin plazma konsantrasyonu artmıştır (5,9). Genellikle serum albümin seviyesi ile kolesterol seviyesi arasında ters orantı vardır (3). Trigliseridlerin seviyesi

daha değişken olup, hafif hipoalbuminemide normal sınırlarda bile olabilmektedir (24,25). Hipoalbuminemi gibi hiperlipidemi de artmış sentez veya azalmış yıkım sonucu meydana gelmektedir. Artmış sentez genellikle albümin sentez artışıyla birlikte. Çünkü lipoproteinler ve albümin birbirine çok yakın metabolik yollarla karaciğerde sentezlenmektedir (3). Lipoprotein lipaz aktivitesindeki azalmayla giden azalmış lipoprotein katabolizması da hiperlipidemiye katkıda bulunmaktadır (26,27).

Tablo 3. Normal ve nefrotik proteinüri tanımı (9).

<p>1. Kalitatif</p> <ul style="list-style-type: none">• 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 <p>2. Semikantitatif; sabah idrarında protein/kreatinin oranı (mg/mg)</p> <ul style="list-style-type: none">• 0,2'in altında normal• 0,2–2,0 hafif• 2,0'in üzerinde ağır proteinüri <p>3. Kantitatif</p> <ul style="list-style-type: none">• Normal: 12–24 saatlik idrar örneklerinde <4 mg/m²/st• Anormal: 12–24 saatlik idrar örneklerinde 4–40 mg/m²/st• Nefrotik sınır: 12–24 saatlik idrar örneklerinde > 40 mg/m²/st
--

Klinik Bulgular

Nefrotik sendromlu hastaların tipik bulguları ödem, iştah azalması, irritabilite, gastrointestinal rahatsızlık ve enfeksiyonlara yatkınlıktır (1,2,5,9,10,16). Ödem başlangıcının glomerüler hastalığa spesifikliği 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 (1,2,5,9,10).

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 (9,10).

Hipertansiyon MLH dışındaki diğer glomerüler lezyonlardan birine sahip hastalarda sık karşılaşılan bulgulardandır. Yine hipertansiyon çok basit şikâyetten ensefalopatiye kadar uzanan klinik tabloda karşımıza çıkabilir (1,2,9,10). Hematüri MLH' da görülebilmese rağmen beklenen bulgu değilken MLH dışındaki glomerülo nefritli hastalarda daha sık görülmektedir (1,5,9,10).

Laboratuvar Bulgular

Nefrotik sendromlu hastalarda laboratuvar değerlendirme; NS' un teşhisi ve şiddetinin belirlenmesi, muhtemel etyolojik etkenlerin tespiti ve renal biyopsi ile kesin histolojik teşhisin konması için yapılmaktadır (9).

İdrar stiği ile proteinüri, hematüri, mikroskopi ile hiyalen silendirler ve yağ cisimcikleri görülmektedir. Eritrosit, granüler, mumsu ve geniş silendirlerin varlığı MLH dışındaki glomerülo nefritler lehine bir bulgudur (5,9).

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 alfa 2 ve beta-globülin seviyesi artmıştır (5,9). Serum IgG seviyesi azalırken. IgM ve IgE seviyesi artar. Serum kolesterol ve trigliserid seviyesi artmıştır. Böbrek fonksiyonları için BUN ve serum kreatinin değerlendirilmesi gereklidir (5,9,10).

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 araştırılmalıdır (9).

Nefrotik Sendromun Tedavisi

Nefrotik sendromda destek tedavisi ve spesifik tedavi olmak üzere iki tedavi yaklaşımı uygulanır (9).

Destek Tedavisi

Nefrotik sendromlu çocukların destek tedavisinde önemli olan faktörler diyet, aktivite ve diüretik tedavisidir(1,2,9,10).

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 yoktur (10).

Aktivite: Aktivite kısıtlamasının hastalık ilerlemesine veya prognoza etkisi olmayıp, çocukları yatağa bağlamak imkânsız olduğundan aktivite kısıtlaması gereksizdir (1,9,10).

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 infeksiyonu varlığında verilir. Devamlı diüretik tedavisi dirençli ödemli vakalarda verilmektedir. Komplikasyonlarından dolayı albümin tedavisi seçilmiş vakalarda uygulanmaktadır (9,10).

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 (1,2,9,10,16,17).

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 protokolüdür (28–33). 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 (34, 35).

Steroidlerin etki mekanizması; monosit ve lenfosit sayısında azalma, immünoglobülinlerin ve kompleman konsantrasyonlarında azalma, hasarlanma bölgesinde lökosit toplanmasında azalma ve membran stabilizasyonudur(43). Ancak NS'da steroidlerin hangi mekanizma üzerinden etki gösterdikleri bilinmemektedir. Steroid tedavisine cevap almayan 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 (1,2,9,16,17,35,36).

Pulse Metilprednizolon: Steroide cevapsız bazı vakalarda (örneğin FSGS gibi) yararlı olduğu gösterilmiştir (9,37). Doz IV 20-30 mg/kg olup, bu doz 3-6 kez ya da bazı protokollerde daha uzun süreli önerilmektedir (1,2,9,38).

2) Sitotoksik Tedavi: NS' da sitotoksik ilaç kullanım endikasyonları uzun süre steroid kullanımına bağlı yan etkilerin azaltılması, sık relaps olanlarda uzun vadeli remisyonun sağlanması ve steroide cevap vermeyen vakalarda remisyonun sağlanmasıdır (9). Tedavi başlamadan önce bu ilaçların yan etkileri hakkında bilgi verilmeli ve onay alınmalıdır.

Siklofosfamid: Alkilleci 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 artar (9). 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 bilinmektedir (68). 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 intravenöz 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 (3,39,40). Siklofosfamidin gonadal toksisitesi son derece önemlidir (8), intravenöz pulse kullanım ile daha azaldığı bildirilmektedir (39,40). 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 göz ardı edilecek kadar azdır (25). 0,1–0,2 mg/kg/gün birikmiş doz 7-10 mg/kg' ı geçmeyecek şekilde 8–10 hafta süre ile verilir (41,42).

Alkilleyici ajanların yan etkileri hızlı mitoz gösteren hücreler üzerinde çok belirgindir. Sıklıkla lökopeniye neden olurlar. Beyaz küre sayımı haftalık yapılmalı ve 4000/mm³' ün altında tedavi kesilmelidir. Bu süpresyon geri dönüşümlüdür. Bulantı, kusma, alopesi diğer yan etkilerindendir. Bu ilaçlarla lösemi geliştiği bildirilmiştir (2,43).

Azotipirin: Dokularda 6-merkaptopürine transforme olur. İntravenöz 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 etkilerdir (9). 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 azotipirin kullanımının faydalı olduğu gösterilmiştir (44,45).

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 günaşırı olup, 1–18 ay süre ile verilmektedir (5,9, 46–51).

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 konvülsyon gibi nörolojik bulgular, enfeksiyon insidansında artış, hiperürisemi ve gut yan etkilerindendir (52–56).

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 µgr/L de tutacak şekilde 0,1 mg/kg/gün 2 eşit dozda verilmesi önerilmektedir. Yan etkileri siklosporinle aynı olmakla birlikte nefrotoksitenin daha az şiddette olduğu kabul edilmektedir (57–59).

Mikofenolat Mofetil (MMF): 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 (60,61). 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 (62,63). Proteinüriyi azaltma etkisi başlangıçta % 10-20' iken tedaviye devam edilirse %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 yayımlar olmasına rağmen sonuçlar pek ümit verici değildir (5).

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 göstermişlerdir (9).

2.2. Çocukluk Çağı Ateroskleroz Gelişimine Etki Eden Faktörler

Aterosklerozun, çocukluk çağında kolesterol ve esterlerinin geniş müküler ve elastik arterlerin intimalarındaki makrofajlarda birikimleri ile başladığını bilinmektedir. Bu erken lezyonlar yağlı çizgilenmeler olarak bilinirler ve zararsızdırlar. Ancak bazı bireylerde ve belirli arter bölgelerinde lipit birikmeye

devam eder ve ekstrasellüler hale gelir. Bu aşamada makrofajların sayısı artar, düz kas ile bağ dokusu proliferate olarak fibromusküler bir başlık oluşturmaya çalışır. İntimanın üzerine çıkan bu lezyona fibröz plak veya kabarık lezyon denir Daha sonraki yıllarda kabarık lezyonlar boyut ve uzanım olarak büyürler ve arterin lümenine ulaşırlar. Fibromusküler başlık kırılğan hale gelir ve yırtılmaya yüz tutar, altındaki lipitten zengin nekrotik debrisini kana vermeye başlar Bir plak yırtıldığında trombüs oluşur ve lümeni tıkayarak tutulan organın iskemisine neden olur. Bu olay koroner arterlerde oluşursa sonuç koroner arter hastalığı (anjina, miyokard enfarktı, ani kardiyak ölüm), karotis veya serebral arterlerde oluşursa inme, bacaktaiki arterlerde oluşursa gangrene neden olur (66).

Russell Ross ilk kez 1976 yılında aterosklerotik lezyonların gelişimine dair hala geçerli olan hipotezlerden biri olan “hasara yanıt” teorisini ortaya çıkarmıştır (68). Bu hipotezdeki erken anahtar hadise arteryel sistemdeki endotel hasarının sitokin ve büyüme faktörü ile uyarılmış proliferatif lezyonlara neden oluşudur (69). Sözü geçen endotel hasarına ise ateroskleroz için bildirilmiş olan risk faktörleri yol açmaktadır. Bu risk faktörleri majör ve minör risk faktörleri olarak iki ana başlık altında toplanabilir (Tablo 4).

Tablo 4. Ateroskleroz risk faktörleri

Majör risk faktörleri	Minör risk faktörleri
Diyet	Asemptomatik
Sigara	Hiperglisemi
Hipertansiyon	Obezite
Serum lipid düzeyleri	Diabetes mellitus
	Aktivite azlığı
	Aile öyküsü
	Psikososyal gerilim

Bu risk faktörleri ile karşılaşan endotelde meydana gelen hasar sonrasında, monositlerin hasarlı endotele artmış adezyonu ve daha sonra damar duvarının içine geçişleri meydana gelmektedir (69,70). Mononükleer hücrelerin endotele adezyonu yağlı çizgilenmelerin öncesinde gelişen anahtar başlangıç hadisesidir (71–73). Damar

duvarı içine giren monositler ya lipit yüklü köpük hücrelerine dönüşüp yağlı çizgilenmeleri oluştururlar, ya da aktive makrofajlara dönüşerek sitokinleri salgırlar ve lipoproteinleri kısmen de olsa oksidasyonla modifiye ederler (70,74). Lezyonlarda aktive T hücreleri de bulunur (70,75). Yani, monositler ve T lenfositler aterosklerotik plaklarda baskın olarak bulunan inflamatuvar hücrelerdir.

Hiperkolesterolemik kişilerde periferik kan mononükleer hücrelerinin dış ortam adezyon analizlerinde endotel hücrelerine yapışkanlığının arttığı gözlenmiştir (71,76,77). Hiperkolesterolemik ve normokolesterolemik kişiler arasında akım sitometrisi ile monosit yüzey markerları arasında farklılıklar tespit edilmişse de bunun fonksiyonel belirginliği henüz bilinmemektedir (70,71). Mononükleer hücrelerin bozulmuş davranışlarından sorumlu moleküler sinyal mekanizmaları muhtemelen çok faktörlüdür ve inflamatuvar sitokinleri, LDL kolesterolü, platelet aktive edici faktörü, dolaşımdaki çözünür adezyon moleküllerini ve endotel kökenli nitrik oksitin azalmış biyoaktivitesini içermektedir (71,78-80). Tüm bu olası mekanizmaların sonucunda ortaya çıkan tablo ise endotel fonksiyonlarında giderek artan kayıptır.

Bu mekanizmaların sonucunda oluşan yağlı çizgilenmelerin hiperkolesterolemi gibi normal fizyolojiyi bozan koşullarda ilerlemeye devam etmesiyle aterosklerotik lezyonların sonraki evreleri meydana gelmektedir. Bu aşamada, ateroskleroz gelişiminde “hiperkolesterolemi” ve “endotel fonksiyonlarında kayıp” kavramları anıldığında akla gelen soru hiperkolesterolemi nin başlangıç endotel disfonksiyonunu nasıl uyardığıdır. Aslında bu sorunun tam anlamıyla bir yanıtı henüz mevcut değildir. Fakat hayvan modellerinde de varlığı kanıtlanmış olan, hiperkolesterolemi durumlarında aterosklerozun tüm histolojik değişikliklerinin öncesinde gerçekleşen, venüler ve arteriolar reaktivitedeki değişikliklerle karakterize progresif vasküler düzensizliklerin bu soruya bir yanıt olabileceği düşünülmektedir (81,82). Ayrıca hiperkolesterolemik damarlarda artmış süperoksit anyon üretimi, erken dönemde bioaktif NO azalmasıdaki ilk patofizyolojik değişikliklerden biri olarak görülmektedir (81,83). Endotel kökenli NO’ de fonksiyonel bir kayıp ise belirgin endotelial disfonksiyon ile artmış platelet agregasyonu, artmış nötrofil ve monosit adheransı ve artmış monosit kemotaksisi ile ilişkilidir (66,81,84–86). Son bahsedilen bu mekanizmalar kendi aralarında bir kısır döngü şeklinde endotel

fonksiyonunu bozmaya devam ederler ve aterosklerotik süreç ilerler. İşte bu noktada hiperkolesterolemi ile ateroskleroz arasındaki ilişkinin kilit noktası olan endotel fonksiyon kaybı ve NO kendini göstermektedir.

2.3. Nitrik Oksit (NO)

Endotel kökenli gevşeme faktörü (endothelium- derived relaxing factor- EDRF) ilk kez 1980 'de Furchgott tarafından tanımlanmıştır (85). Bunlar, tavşan torasik aortunun intimal döşemesini yapan hücrelerin oldukça güçlü ancak kısa ömürlü çözünebilir bir vazodilatör salgıladığını bulmuşlardır. Bu vazodilatörün etkisi bilinen diğer endojen vazodilatör olan prostasiklinin aksine indometazin ile inhibe olmamadır. Kısa ömrü nedeniyle EDRF' nin biyokimyasal tanımı yaklaşık on yıla yakın gerçekleştirilememiştir. 1986' da araştırmacılar birbirlerinden bağımsız olarak EDRF' nin NO veya NO içeren bir madde olduğunu öne sürdüler ve bu iddialarını, EDRF' nin biyolojik ve fiziksel özelliklerinin diğer nitrovazodilatörlere olan benzerliği yönündeki gözlemlerine dayandırdılar (87). Daha sonra Palmer ve arkadaşları kemoluminasans ve biossay tekniklerini kullanarak NO' in endotel hücreleri tarafından sentezlendiğini ve EDRF' nin gevşetici aktivitesinden sorumlu olduğunu kanıtlamışlardır (93,94,96).

Endotel kökenli NO bilinen en güçlü endojen vazodilatördür. NO endotelden, birçok nörohormonal ajanlara veya fiziksel kuvvetlere yanıt olarak salgılanır. Norepinefrinin, serotoninin, vazopressin II' nin ve endotelinin vazokonstriktör etkilerine endotel tarafından karşı konmaktadır. Bu agonistlerle endotel üzerindeki spesifik reseptörlerin aktivasyonu NO salınımını uyarır ve NO, vazokonstriktörlerin damar düz kası üzerindeki etkilerini azaltır (87,88). Aynı fenomene aggregate olan plateletlerin damar tonüsü üzerindeki etkilerinde de rastlanır (87,89). Aggregate olan plateletler endotel yokluğunda vaskonstriksiyonu uyarmak üzere adenozin difosfat ve serotonin salgırlar. Ancak endotel sağlam iken bu ajanlar endotel yüzeyindeki purinerjik ve serotoninerjik reseptörlerle etkileşir ve NO sentezi ile salınımını uyarır. NO kuvvetli bir vazodilatördür ve çözünür guanilat siklazı aktive eder, bu nedenle de siklik GMP' nin intraselüler düzeylerini artırır. Ayrıca NO, hücre proliferasyonu ve adezyonuna da inhibitör etkilidir. Vasküler düz kas hücrelerinin veya kültürdeki lenfositlerin proliferasyonu, endojen NO ve ekzojen NO vericileri tarafından inhibe edilebilmektedir (90–92). Platelet adezyonu ve agregasyonu gibi monosit adezyonu

ve kemotaksisi de bu molekül tarafından inhibe edilmektedir (90,93–95). Bu etkilere eşlik ve de aracılık eden, intraselüler siklik GMP artışıdır. Bu nedenle endotel kökenli NO'nun antiplatelet özellikleri sergilemesi şaşırtıcı değildir (87,96,97). Diğer nitrovazodilatörler gibi NO de, prostasiklin ile sinejistik davranarak platelet agregasyonu ve adheransını inhibe etmekte ve endotelin antitrombojenik özelliklerine majör katkıyı sağlamaktadır (87).

Yapılan invitro çalışmalar NO'ın aterosklerozda rol oynayan birçok anahtar süreci baskıladığını göstermektedir. Bu nedenle vasküler NO aktivitesindeki bir azalmanın aterogenezi destekleyeceğini düşünmek mantıklıdır. Hiperkolesterolemik hayvan ve insanlarda meydana gelen ilk anormalliklerden biri, vasküler NO aktivitesinde azalma ve buna bağlı olarak endotel bağımlı vazodilatasyonda meydana gelen bozulmadır. Endotelin vazodilatör disfonksiyonu, aterosklerozun klinik gelişiminin öncesinde meydana gelir ve hastalığın ilerlemesine katkıda bulunur (98–104). Aterosklerozun gelişimindeki risk faktörlerinden olan hipertansiyon, hiperkolesterolemi ve sigara içimi gibi etkenler endotelyal vazodilatör disfonksiyona neden olmaktadır ve eşzamanlı olarak bulduklarında etkileri birbirlerine eklenmektedir (101,105–108). Bu veriler endotelin vazodilatör fonksiyonunun ve bu fonksiyonun en önemli sağlayıcısı olan NO'nun önemini ortaya koymaktadır.

Nitrik Oksit Sentaz (NOS)

Birçok hücre NO sentezleyebilmektedir. Bu sentezden sorumlu olan üç NOS tanımlanmıştır. NOS, insan biyolojisinde homeostazdan patolojik durumlara kadar değişen bir yelpazede belirgin rol oynayan bir moleküldür (87). NO sentaz enzimleri ilk saflaştırıldıkları ve cDNA'larının ilk izole edildiği yerlere göre izoform I (nöral ve epitelyumyal hücrelerde), II (sitokinle indüklenen hücrelerde) ve III (endotel hücrelerinde) olarak isimlendirilmişlerdir. Enzimler sitokrom p450 ile yüksek sekans benzerliğine sahiptirler ve aynı zamanda hem bir hidroksilasyon tepkimesini hem de NADPH redüksiyonunu katalizleyebilen tek memeli proteinleridir. Bu üç izoform türleri arasında %85–95 sekans benzerliği ile korunurlar. Buna karşın her üç izoform birbirleriyle sadece %50–55 sekans benzerliğine sahiptirler (87). Tüm izoformlar substrat olarak L-arjinini kullanırlar ve kosubstratları da moleküler oksijendir (109). NO sentezi, L-arjininin guanidino-nitrojeninin beş elektronlu oksidasyonudur ve sonuçta NO ile eş ürün olarak L-sitrülin meydana gelir, ara ürün ise NG-hidroksil L-

arginin dir (110). Bu izoformlar için yarı doygunluk sağlayan L-arginin konsantrasyonları (Michaelis-Menten sabiti, KM) izoform I için 1,4 ila 2,2 $\mu\text{mol/L}$ (111–113), izoform II için 2,8, 16 ve 32,3 $\mu\text{mol/L}$ (112,114–116) ve izoform III için 2.9 $\mu\text{mol/L}$ olarak verilmiştir. Gerekli kofaktörler ise NADPH, biopterin, flavin adenin dinükleotid (FAD) ve flavin mono nükleotiddir (FMN) (109,112,115). NOS'un her üç izoformu da "hem" içermektedir ancak bunun katalitik süreçteki rolü tam anlaşılamamıştır (112,117,118). NOS'un izoform I'i sadece beyinde bulunmaz, aynı zamanda spinal kordun belirli bölgelerinde, sempatik gangliyonlarda ve adrenal bezlerde, periferik nitreerjik sinirlerde, akciğer epitelyum hücrelerinde, uterusu ve midede, böbrek makula densa hücrelerinde, insan iskelet kasında ve pankreatik adacık hücrelerinde de bulunmaktadır (112,119–124). İzofom I, Ca^{2+} ve kalmodulin bağımlıdır ve 100 nmol/L Ca^{2+} konsantrasyonunda inaktifken, 500 nmol/L konsantrasyonunda tamamen aktiftir (112,125,126). Bu enzim Ca^{2+} -kalmodulin bağımlı protein kinaz II, protein kinaz C ve siklik AMP bağımlı protein kinaz tarafından fosforile edilmektedir (112,127). NOS I' in protein kinaz C tarafından fosforilasyonu bu enzimin aktivitesini belirgin olarak düşürmektedir (112,128). Birçok hücre tipi NOS izoform II açığa çıkarması için uyarılabilir. Her durumda bu tepkime hücre ve dokuların lipopolisakkaritler ile sitokinlere etkilenimine bağlıdır. Genellikle NOS II' nin immün yanıt sırasında indüklenen bir enzim olduğu kabul edilir. NOS II, birçok farklı sitokin tarafından transkripsiyonel olarak düzenlenmektedir. Bu enzim bir kez sentezlendikten sonra ise aktivitesi için bilinen herhangi bir düzenleyici mekanizma bulunmamaktadır. İlginç olarak bu enzim aktivitesi için Ca^{2+} dan bağımsız olmasına rağmen kalmodulin için bir bağlanma bölgesi içermektedir (112, 129, 130). Bu izoform fetal dokularda da tespit edilebilir ve muhtemelen sentezi gelişim sırasındaki endojen stimuluslardan kaynaklanmaktadır. Bu enzim ayrıca immün aktivasyonun olmadığı insan bronş epitelyumunda, alveolar makrofajlarda ve sıçan böbreğinde de tespit edilmiştir (87). İzofom III' e spesifik bir antikor kullanılarak yapılan immünohistokimyasal çalışmalarda bu enzimin endotel hücrelerine spesifik olduğu görülmüştür. Bu enzim insan dokularını da içeren birçok dokudaki farklı endotel hücre tiplerinde (arteryel ve venöz) tespit edilmiştir (112,131). Yakın bir zamanda ise insan plasentasında sınıtyo trofoblastlarda ve böbrek tübüler epitelyum hücrelerinde de tespit edilmiştir

(112,132,133). NOS izoform III, Ca^{2+} (100 ila 500 nmol/L arasında) ve kalmodulin tarafından düzenlenmektedir (112,219). Yakın zamanlarda sentezi sağlayan geni düzenleyen bazı mekanizmalar tanımlanmıştır. Akan kanın yarattığı gerilim stresi sadece endotel NO salınımını akut olarak artırmamakta, aynı zamanda NOS III sentezini de artırmaktadır (112,134,135). NOS III'ün promotor bölgesinde gerilim stresine yanıt veren bir bileşen tespit edilmiştir (112,136). NOS III bradikinine yanıt olarak serin fosforilasyonuna gitmekte ve aynı zamanda agonist aktivasyonla endotel hücrelerinin sitozolik bölümüne geçmektedir (112,137). NO sentaz enzimlerinin aktiviteleri ile üretilen NO, endotel fonksiyonlarının devamlılığının sağlanmasında anahtar moleküldür. Hiperkolesterolemi de aterosklerotik lezyonların gelişiminde kilit mekanizmalardan biri olan endotel NO fonksiyonunun bozulmasında, bu fonksiyonların devamını sağlayan NO' de de bir bozulma olacağını düşünmek pek de mantıksız olmaz. Birçok çalışmada endotel kökenli NO' in biyo kullanılabilirliğinde bir azalma meydana geldiği, risk faktörleri olan kişilerde gösterilmiştir (101, 107). NO sentaz enziminin substratı olan L-arginin ile bu enzimin ürünü olan NO arasında yer alan yollarda meydana gelebilecek bir baskılanma, endotelden NO salınımını sekteye uğratabilecektir. Aterosklerozda sistemik NO oluşumundaki azalma, azalmış NOS gen ifadesine veya azalmış NOS enzim aktivitesine bağlanabilir. Azalmış enzim aktivitesi, NOS bölgelerinde azalmış intraselüler L-arginine bağlı olabilir (138). Hiperkolesterolemi de ekzojen L arjinin uygulanması ile geri döndürülebilir olan azalmış NO oluşumunu açıklamak için muhtemel bir mekanizma ise, endojen NOS inhibitörlerinin birikimi olabilir. ADMA endojen olarak oluşan bir NOS inhibitörü olarak tanımlanmıştır (101,127,138–141). Hayvanlarda ve insanlarda hiperkolesterolemi varlığında ADMA düzeyleri yükselmektedir (142–145).

2.4. Asimetrik Dimetilarjinin (ADMA)

NO sentezi, enzimin aktif bölgesi için yarışmalı inhibitör olarak davranan L-argininin guanidino-ilaveli analogları tarafından selektif olarak inhibe edilebilir (147,157). İnsan plazmasında varlığı uzun süredir bilinen ADMA' nın NOS için bir inhibitör olduğunu ilk bildiren Vallance ve arkadaşlarıdır (161). Bazı deneysel çalışmaların sonuçlarına göre patofizyolojik derecede (3–15 $\mu\text{mol/L}$) yüksek olan ADMA konsantrasyonlarının vasküler NO konsantrasyon dengesini belirgin olarak

inhibe edebildiği gösterilmiştir (147,158–160). Kültürlenmiş insan makrofajlarında ADMA, konsantrasyona bağımlı olarak NO üretimini inhibe etmiştir (147,161,162). Dimetil arjininler metillenmiş proteinlerin yıkımı sonucu oluşurlar (147,163,164).

Spesifik bir enzim olan “S-adenozilmetiyonin protein arjinin N-metiltransferaz” (protein metilaz I), internal arjinin rezidülerini birçok farklı polipeptid ile metillemektedir ve proteolizle oluşan ürünler NG-monometil-L-arjinin (L-NMA), NG, NG-dimetil-L-arjinin (Asimetrik Dimetilarjinin - ADMA) ve NG,NG`-dimetil-L-arjinin (Simetrik Dimetilarjinin SDMA) olmaktadır (147,165-167). Dimetil arjinin sentezini sağlayan bu enzim, homosistein metabolizmasında bir ara ürün olan S-adenozilmetiyonini metil grubu vericisi olarak kullanmaktadır ve serbest ADMA ile SDMA proteolitik yıkım esnasında serbestlenmektedir (140,165,166). L-NMA ve ADMA endojen NOS inhibitörleridir (109,141). ADMA'nın sitriline metabolize oluşu, dimetil arjinin dimetilaminohidrolaz (DDAH) tarafından hidrolitik degradasyon ile gerçekleştirilmektedir (145,147,168). ADMA vücuttan metabolize olmanın yanında böbrekten temizlenme ile de uzaklaştırılırken, SDMA için tek uzaklaştırma yolu idrara atılmadır. Bu nedenle ADMA ve SDMA son dönem böbrek yetmezlikli hastaların plazmalarında birikmektedir (141,147,169–171). DDAH inhibisyonu ile vasküler segmentlerde dereceli vazokonstriksiyon gerçekleşmektedir ve bu durum L-arjinin ile tersine dönmektedir (147,163). Bu bulgu intrasellüler ADMA düzeylerindeki değişimlerin NOS aktivitesini etkilediğini düşündürür (145,163).

Ito ve arkadaşları okside LDL kolesterol veya TNF- α tarafından oksidasyon stresine maruz kalan endotelial hücre kültürlerinde DDAH aktivitesinin azaldığını, ancak protein sentezinde bir değişim olmadığını göstermişlerdir (172). Benzer bir gözlem de hiperkolesterolemik tavşanların aort, böbrek ve karaciğer doku homojenatlarında izlenmiştir. Bu nedenle hiperkolesterolemi deki yükselmiş ADMA düzeylerine DDAH aktivitesindeki değişikliklerin katkısının olabileceği düşünülmektedir (145,147,172). Dimetil arjininler ayrıca böbrekler tarafından atılır ve kronik böbrek yetmezliğinde birikirler (141,145). Ancak ADMA birikimi, normal renal fonksiyonlarına karşın aterosklerotik insanlarda ve kolesterolle beslenen hayvanlarda da gösterilmiştir (144,145). Azalmış DDAH aktivitesi

hiperkolesterolemi de ve hiperglisemide ADMA yükselmesinden sorumlu olabilir (145,146).

Hiperkolesterolemik hayvan modellerinde NOS' ın farmakolojik inhibisyonu ateroskleroza körüklemektedir (85,147–148). Diğer taraftan endojen NO oluşumunun L-arjinin desteği ile yükseltilmesi platelet aktivasyonu ile monositlerin endotele tutunmasını inhibe etmekte ve lezyonların ilerleyişini yavaşlatmakta hatta gerilemeyi sağlamaktadır (85,147,150–154). Bu deneysel bulgular NOS aktivasyonunun ateroskleroza karşı korunmadaki ve NOS inhibisyonunun hastalığın ilerlemesi yönündeki antagonistik etkilerini ortaya koymuştur. Bu nedenle NOS' ın ADMA ile modülasyonu ateroskleroz progresyonu yönünden önemli olabilir. ADMA yüksekliğinin kardiyovasküler hastalıkların bir nedeni mi yoksa bir sonucu mu olduğu hala büyük bir tartışma konusudur. Yapılan deneysel çalışmalar endotelial NOS' un ADMA tarafından inhibisyonunun vasküler bozuklukların başlatılması ve ilerlemesinde patofizyolojik bir rol oynadığını göstermektedir. Hiperkolesterolemi nedeniyle ateroskleroz gelişimi yönünden büyük risk altında olan ancak hastalığın klinik belirtilerinin görünür hale gelmediği kişilerde çok erken dönemlerde ADMA düzeylerinde artışın saptanmış olması, NOS' ın bu endojen inhibitörünün vasküler oklusif hastalığın oluşumunun öncesinde belirlediğini göstermektedir. Miyazaki ve arkadaşları koroner veya periferik arter hastalığı belirtileri olmayan 116 kişinin plazmalarında ADMA düzeylerini tespit etmişlerdir (101). L-arjinden dimetilarjininlerin sentezi sırasında kullanılan metil grupları homosistein döngüsünden gelmektedir; dolayısıyla homosistein, ADMA sentezinde dolaylı da olsa rol oynayan bir moleküldür. Homosistein, ADMA ile olan ilişkisi nedeniyle ateroskleroz da rol oynayabilse de aslında kendisi de oldukça aterojenik bir aminoasittir. Birçok çalışmada koroner, serebrovasküler veya periferik arter hastalıklarında yükselmiş homosistein düzeyleri gösterilmiştir. Bu ilişki sıktır ve ateroskleroz için olan birçok diğer risk faktöründen bağımsızdır (155).

2.5. Karotis Arter İntima-Media Kalınlığı (İMK)

Distal ana karotis arterde İMK' nin non-invazif B-mode USG ile ölçümü klinik koroner hadiseler için iyi bir belirteçdir, aterosklerozun ilerlemesini ve gerilemesini takip için epidemiyolojik ve klinik çalışmalarda kullanılan non-invazif bir yöntemdir (173–177). Risk faktörü olan çocuklarda yapılan ultrasonografik

çalışmalarda aterosklerotik damar kalınlaşmaları gösterilmiştir (178–181). Longitudinal çalışmalarla çocuklukta ölçülen risk faktörlerinin düzeylerinin erişkinlikteki risk faktörü düzeylerinin n belirteçleri olduğu gösterilmiştir (180,182-184). Ayrıca ocuklarda yapılan çalışmalarda ailesel hiperkolesterolemisi olanlarda İMK' nın belirgin olarak arttığı görülmüştür (179,181,185). Ultrasonografik yöntemle ölçülen ana karotid arter İMK prelinik aterosklerozun bir belirteci olarak kabul edilebilir çünkü vasküler risk faktörleri ile koreledir, koroner arter hastalığının ciddiyeti ve uzanımı ile ilişkilidir ve popülasyon gruplarında kardiyovasküler hadiselerin ihtimalini önceden tahmin edebilmektedir (176,180,181,185–188).

Çocukluk ağında tanımlanan kardiyovasküler risk faktörlerinin erişkin ateroskleroza ile ilişkili olduğu daha önceden Muscatine alışması ile gösterilmişti. Mahoney ve arkadaşları çocuklarda ölçülen risk değerlerinin genç erişkinlerdeki koroner arter kalsifikasyonları ile ilişkili olduğunu göstermişlerdi (189). Daha yakın bir zamanda Davis ve arkadaşları 725 genç erişkinde karotis İMK ölçmüşler ve çocuklukta risk faktörleri ile erişkin karotis İMK arasında ilişki tespit etmişlerdir (190).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı tarafından yürütülmüştür.

3.1. Çalışma Grubunun Seçimi

Çalışma grubunu Ocak 2010 - Haziran 2011 tarihleri arasında DÜTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Nefroloji Polikliniğine başvuran 27 ilk tanı-relaps nefrotik sendrom ve kontrol grubu olarak çalışılan 25 sağlıklı çocuktan oluşturmuştur.

Anamnez kısmında çocukların yaş, cinsiyet, kronik hastalıkları sorgulanıp, Çalışmaya katılan çocukların fizik muayeneleri yapıp; kan basınçları, boyları ve vücut ağırlıkları (VA) ölçülmüş. Çalışmaya katılan çocuklardan kan örnekleri alınmış hemogram, üre, kreatinin, albumin, kalsiyum, fosfor, alkalin fosfataz, ürik asit, parathormon, glomerüler filtrasyon hızı, lipit profili, ferritin, B12 vitamin, folik asit, hs-CRP, ADMA ve NO düzeyleri ölçülmüş ve ultrasonografik olarak karotis İMK' ları değerlendirilmiştir.

Hasta ve kontrol grubunda yer alan çocukların çalışmaya dahil edilme kriterleri şunlardır;

- 1-15 yaş arasında olmak
- Akut veya kronik başka bir hastalığı olmamak
- Hastalığının yeni tanı- relaps ve remisyon-kontrol tipte olması,
- Herhangi bir enfeksiyon veya inflamatuvar hastalığının olmaması,

Olguların antropometrik ölçümleri (Boy, kilo, kan basıncı) tarafımda kaydedildi. Ölçümler için hassas olan SECA marka standart boy ve kilo ölçer kullanıldı.

3.2. Kan Örneklerinin Alınması ve Ölçümleri

Katılımcıların tamamından toplam 7 cc' yi geçmeyecek şekilde kan örnekleri alınmıştır. Hasta ve kontrol grubunun 4 cc kan örneği hemogram, üre, kreatinin, albumin, kalsiyum, fosfor, alkalin fosfataz, ürik asit parathormon, ferritin, B12

vitamin, folik asit, lipit profili ve hs-CRP parametreler için Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında çalışılmıştır.

Nitrik Oksit ve Asimetrik Dimetilarjinin düzeyini saptamak için alınan 3 cc kan örneği santrifüj edilip (2500 devir/dakika' da 10 dakika) serum örneği ayrılıp, çalışma süresi tamamlanana kadar Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarı derin dondurucusunda -80° C' de saklanmıştır.

Hasta ve kontrol grubunun karotis İMK' ları Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı tarafından ölçülmüştür.

3.3. Kullanılan Yöntemler

3.3.1. NO Düzeyi Ölçümü

NO düzeyleri Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında, Serum nitrat/Nitrit düzeyi 0424205 lot nolu Nitrate/Nitrite colorimetric Assay kiti ile çalışıldı. Nitrat ve nitrit standartları ayrı ayrı hazırlandı. Kör kuyucuğuna 200 µ l assay buffer kondu. Diğer kuyucuklara 40 µ l serum + 40 µ l assay buffer olarak örnekler kondu. Standart ve örneklerin olduğu kuyucuklara 10 µ l Enzim kofaktör karışımı ve 10 µ l Nitrat redüktaz karışımı eklenerek plağın üzerine kapatıldı ve 1 saat oda sıcaklığında inkübe edildi. Her kuyucuğa 50 µ l Griess Reagent R1 ve acilen 50 µ l Griess Reagent R2 eklenerek oda ısısında 10 dakikada içerisinde renk oluşması beklendi. Plate okuyucuda 540 nm' de absorbans ölçümleri yapıldı. Nitrat ve Nitrit düzeyleri µ M olarak hesaplandı.

3.3.2. ADMA Düzeyi Ölçümü

Serum ADMA düzeyi, K 7828-101222 no' lu geçmiş olan örneklerden standart ve kontrollerden Plak üzerindeki kuyruklara 100 µ l kondu. Üzerine 100 µ l ADMA antibody eklendi. plağın üzeri sıkıca kapatılarak 15-20 saat 2-8 °C' de bekletildi. Dilve edilmiş yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkama yapıldı (250 µ l). Her kuyucuğa 200 µ l dilve Poo antibody eklendi. Oda ısısında horizontal karıştırıcı üzerine de (180-240 rpm) bir saat inkübe edildi. Aspire edilen kuyucuklar 5 kez 250 µ l yıkama solüsyonu ile aspire edilerek kurutuldu. Her kuyucuğa 200 µ l TBM substrat eklendi

karanlıkta oda ısısında 6-10 dakika inkübe edildi 100 µ l stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu. ELİSA okuyucuda 450 nm' de absorsiyon ölçümleri yapıldı. Sonuçlar µ mol/l olarak değerlendirildi.

3.3.3. Karotis İntima-Media Kalınlığının Ölçümü

Hasta ve kontrol grubunun karotis İMK ölçümleri yüksek çözünürlüklü B-mod ultrasonografi ile gerçekleştirilmiştir. Her iki taraf karotis arterler, ölçüm yapılan 52 kişinin klinik ve biyokimyasal verilerini bilmeyen, deneyimli bir radyolog tarafından, katılımcı sırtüstü yatar pozisyonda iken değerlendirilmiştir. Tüm çocuklar yüksek çözünürlüklü ultrason tekniği kullanan Logiq 9 (GE Medical Systems, Milwaukee, Wisc. USA) sistemi ve 7,5 MHz lineer yerleşimli transdüser ile incelenmiştir. İMK, karotis arterin media-adventisya arayüzü ile lümen-intima arayüzünün ön kenarı arasındaki mesafe olarak tanımlanmıştır. Sağ ve sol ana karotis arterlerin İMK' leri, karotis soğancığının dilatasyon bölgesinin proksimaldeki 1 cm' lik bölümünde ve sagittal düzlemde ölçülmüştür. Çocuklar için karotis İMK' leri <0,7 mm olması gerekmektedir. Tüm ölçümler sonografik görüntüleme sırasında elde edilen durdurulmuş görüntülerde gerçekleştirilmiştir.

3.4. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi SPSS (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, United States) paket programında yapıldı. Veriler ortalama ± standart sapma olarak verildi. Değişkenlere ait nümerik verilerin normal dağılıma uyup uymadığı tek örneklem Kolmogorov-Smirnov testi ile belirlendi. Hasta ve kontrol grupları arasındaki farklılıkları araştırmak için Mann-Whitney U testi ve Ki-kare testi kullanıldı. Değişkenler arasındaki ilişkiler Spearman korelasyon analizi ile araştırıldı. İstatistiksel farklılık için p<0.05 değeri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan hasta grubu; 1- 15 yaş arası yeni tanı almış nefrotik sendromlu ve relaps nefrotik sendromlu olan 27 çocuk hastadan oluşuyordu. Kontrol grubuna 1- 15 yaş arası 25 sağlıklı çocuk alındı.

4.1. Hasta ve Kontrol Grubunun Antropometrik Ölçümleri, Kan Basıncı ve İntima Media Kalınlıkları

Hasta ve kontrol grubunun antropometrik ölçümleri, kan basıncı değerleri ve intima media kalınlıkları karşılaştırılarak kan basıncı ve intima media kalınlıkları arasında anlamlı farklılıklar tablo 5’ de gösterilmiştir.

Tablo 5. Hasta ve kontrol grubunun antropometrik ölçümleri, kan basıncı değerleri ve intima media kalınlıkları (ortalama±standart sapma)

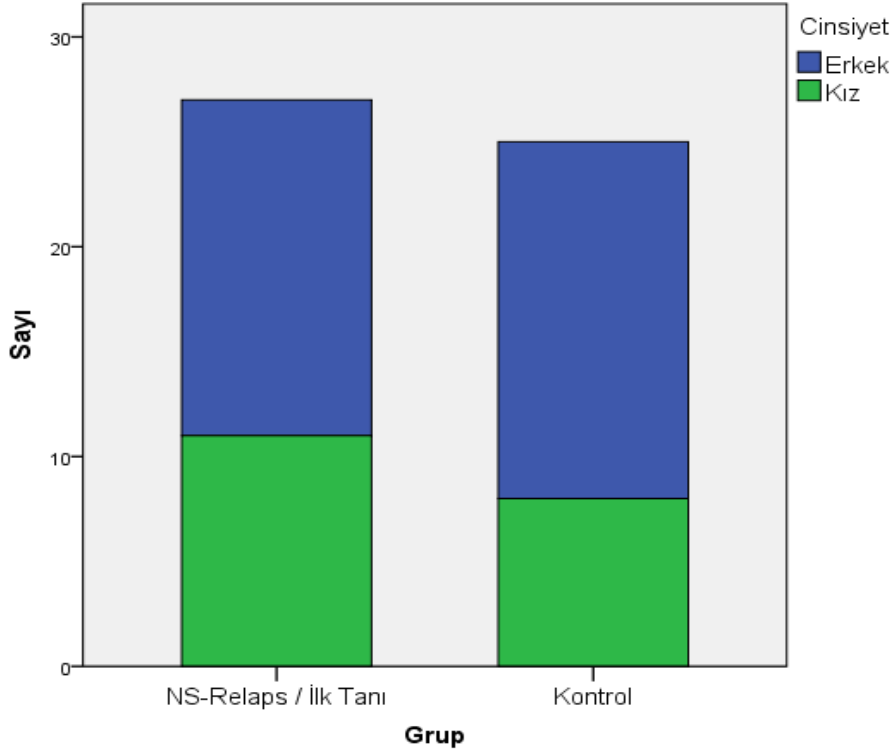
	İlk tanı/Relaps NS (n=27)	Kontrol grubu (n=25)	P
Yaş, yıl	6,96±3,47	7,11±3,25	0,83
Erkek/Kız	16/11	17/8	0,72
Boy, cm	119±24	116±16	0,61
Ağırlık, kg	24,3±10,1	21,1±7,1	0,26
Sistolik KB, mmHg	101±12	94±10	<0,001
Diyastolik KB, mmHg	61±10	57±6	<0,001
Sağ İMK, cm	0,363±0,083	0,267±0,048	<0,001
Sol İMK, cm	0,374±0,093	0,281±0,068	<0,001

NS: Nefrotik sendrom, KB: Kan basıncı, İMK: İntima media kalınlığı

Hasta ve kontrol grubunun cinsiyet ve yaş ortalaması ölçümlerinin karşılaştırılması

Çalışmaya; hasta grubu olarak, 1-15 (6,96 ± 3,47) yaşlarında 16’ sı erkek (n=16, %59,2) ve 11’ i kız (n=11, %40,8) toplam 27 ilk tanı-relaps nefrotik sendromlu çocuk, kontrol grubu olarak ise 1- 15 (7,11 ± 3,25) yaşlarında 17’ si erkek (n=17, %68,0) ve 8’ i kız (n=8, %32,0) toplam 25 sağlıklı çocuk dahil edildi

(Şekil1).

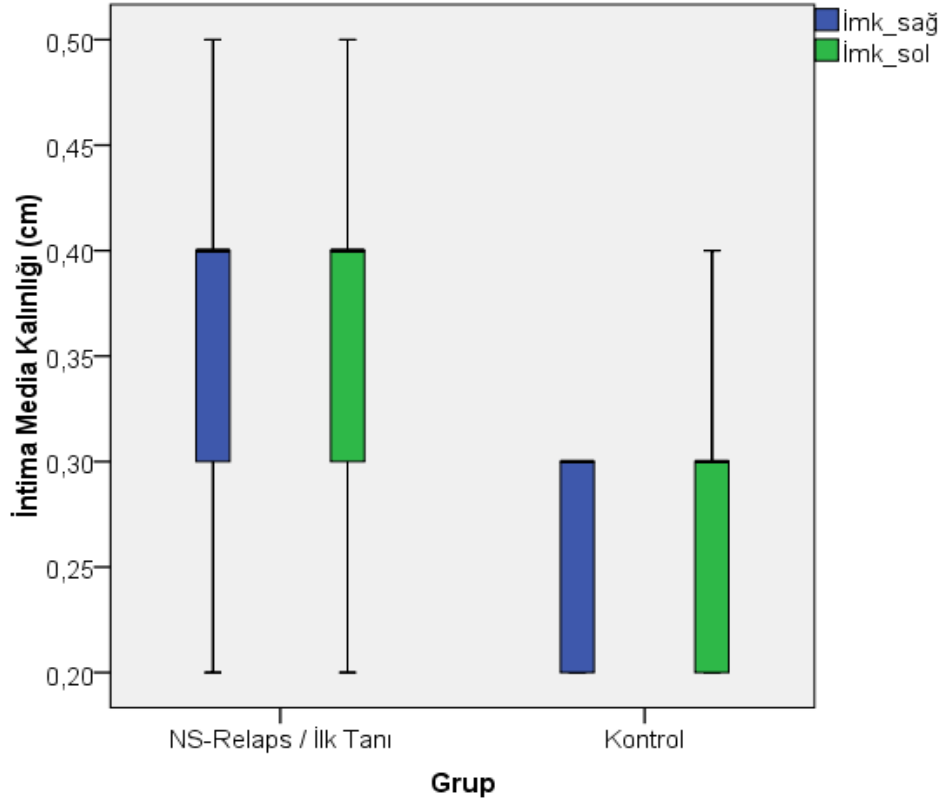


Şekil 1. Nefrotik sendromlu hastalar ile kontrol grubu çocuklarda cinsiyet dağılımı ($p>0,05$)

Nefrotik sendromlu hasta grubunun yaş ortalaması ve cinsiyet dağılımı kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$).

Hasta ve kontrol grubunun sağ ve sol intima media kalınlıklarının karşılaştırılması

Nefrotik sendromlu grupta; ultrasonografik değerlendirme sonucu sağ karotis İMK $0,363 \pm 0,083$ cm ve sol karotis İMK $0,374 \pm 0,093$ cm olarak ölçüldü. Kontrol grubunda; ultrasonografik değerlendirme sonucu sağ karotis İMK $0,267 \pm 0,048$ cm ve sol karotis İMK $0,281 \pm 0,068$ cm olarak ölçüldü (Şekil 2).



Şekil 2. Nefrotik sendromlu ve sağlıklı kontrollerde karotis intima media kalınlığı ortalama değerleri

Nefrotik sendromlu grupta karotis İMK' ları kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı, nefrotik sendromlu çocuklarda sağ İMK ve sol İMK artmış olarak bulundu ($p < 0,05$).

Hasta ve kontrol grubunun kan basıncı ölçümlerinin karşılaştırılması

Nefrotik sendromlu grupta; kan basıncı ölçümü sonucu sistolik KB 101 ± 12 mmHg ve diastolik KB 61 ± 10 mmHg olarak ölçüldü. Kontrol grubunda; kan basıncı ölçümü sonucu sistolik KB 94 ± 10 mmHg ve diastolik KB 57 ± 6 mm Hg olarak ölçüldü. Nefrotik sendromlu grupta; kan basıncı ölçümü sonucu kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı, nefrotik sendromlu çocuklarda kan basıncı yüksek olarak ölçüldü ($p < 0,05$) (Tablo 5).

Hasta ve kontrol grubunun boy ve ağırlık ölçümlerinin karşılaştırılması

Nefrotik sendromlu grupta; boy ortalaması 119 ± 24 cm ve ağırlık ortalaması $24,3 \pm 10,1$ kg idi. Kontrol grubunda; boy ortalaması 116 ± 16 cm ve ağırlık ortalaması $21,1 \pm 7,1$ kg idi

Nefrotik sendromlu grubunun boy ve ağırlık ortalaması kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0.05$)(Tablo 5).

4.2. Hasta ve Kontrol Grubunun Serum Biyokimyasal Değerleri

Nefrotik sendromlu hasta ve kontrol grubu hastaların serum albümin, ürik asit, kalsiyum ve lipit profili gibi biyokimyasal değerlerinin karşılaştırılması yapıldığında elde edilen sonuçlar Tablo 6' da gösterilmiştir.

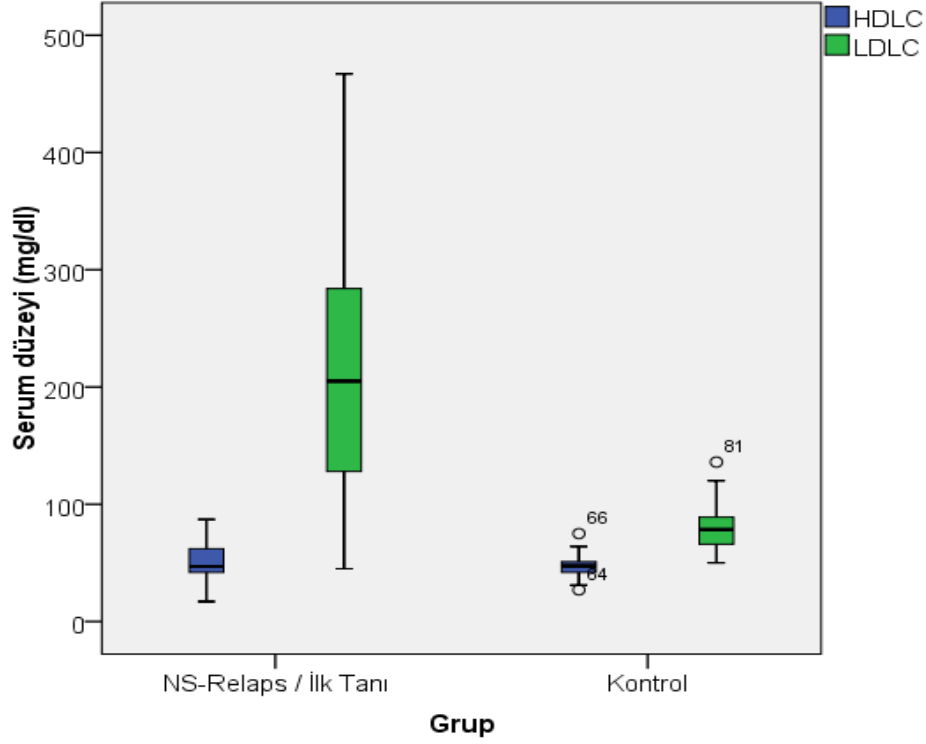
Tablo 6. Nefrotik sendrom (NS) bulunan çocuklar ile kontrol grubu serum biyokimyasal değerlerinin karşılaştırılması (ortalama±standart sapma)

	İlk tanı/Relaps NS (n=27)	Kontrol grubu (n=25)	p
Albumin, g/dl	1,39±0,8	4,0±0,3	<0,001
Üre, mg/dl	24±14	24±6	0,86
Kreatinin, mg/dl	0,41±0,35	0,45±0,05	0,57
Ürik asit, mg/dl	3,6±1,0	2,8±0,6	0,012
Kalsiyum, mEq/L	7,9±0,7	9,8±0,3	<0,001
Fosfor, mEq/L	4,4±1,0	4,7±0,5	0,47
Alkalen fosfataz, U/L	178±83	220±61	0,06
Total kolesterol, mg/dl	315±132	146±23	<0,001
Trigliserid, mg/dl	230±138	91±62	<0,001
HDL-K, mg/dl	51±16	48±10	0,57
LDL-K, mg/dl	216±111	80±21	<0,001

NS: Nefrotik sendrom, HDL-K: Yüksek yoğunluklu lipoprotein-kolesterol, LDL-K: Düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol

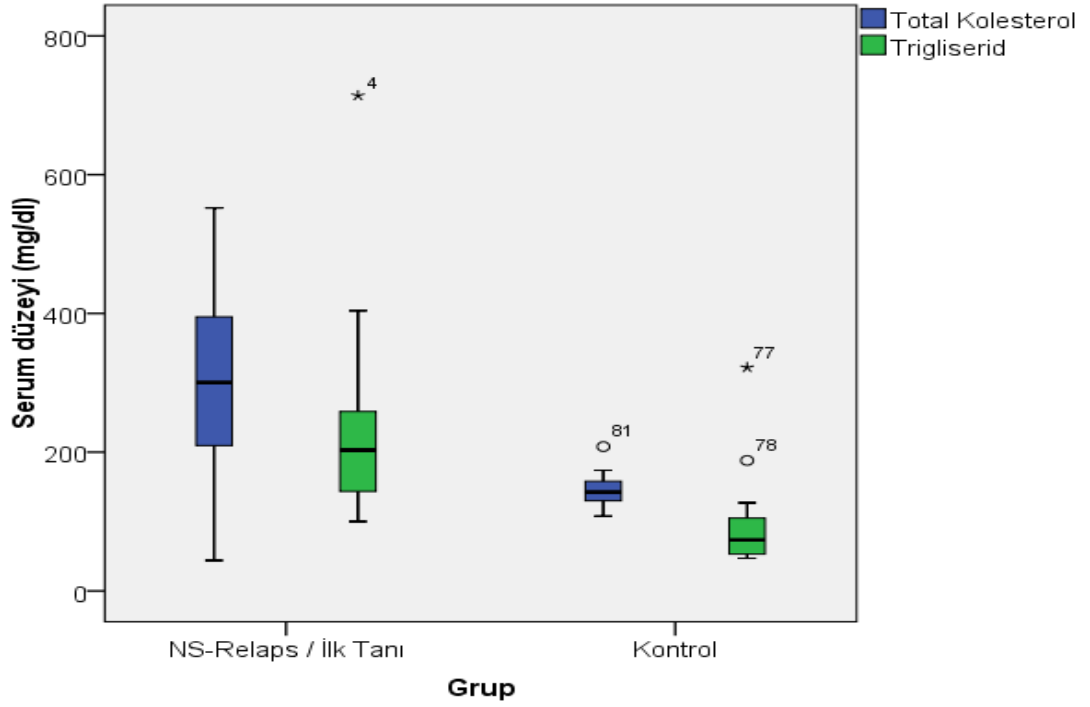
Hasta ve kontrol grubunun serum lipit profili düzeylerinin karşılaştırılması

Hasta ve kontrol grubunun serum LDL-K ve HDL-K düzeylerinin şematik olarak karşılaştırılması Şekil 3 te görülmektedir.



Şekil 3. Serum LDL-K ve HDL-K ortalama düzeylerinin hasta ve kontrol gruplarında karşılaştırılması

Hasta ve kontrol grubunun serum total kolesterol ve trigliserid düzeylerinin şematik olarak karşılaştırılması şekil 4 te görülmektedir.



Şekil 4. Hasta ve kontrol gruplarında serum TC ve TG düzeyleri

Nefrotik sendromlu grupta; total kolesterol düzeyleri 315 ± 132 mg/dl, LDL kolesterol düzeyleri 216 ± 111 mg/dl ve trigliserit düzeyleri 230 ± 138 mg/dl idi. Kontrol grubunda; total kolesterol düzeyleri 146 ± 23 mg/dl, LDL kolesterol düzeyleri 80 ± 21 mg/dl ve trigliserit düzeyleri 91 ± 62 mg/dl idi. Nefrotik sendromlu grupta; total kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserit düzeyleri ölçümü sonucu kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı, nefrotik sendromlu çocuklarda total kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserit düzeyleri artmış olarak bulundu ($p < 0,05$) (Tablo 6).

Nefrotik sendromlu grupta; HDL kolesterol düzeyleri 51 ± 16 mg/dl idi. Kontrol grubunda; HDL kolesterol düzeyleri 48 ± 10 mg/dl idi. Nefrotik sendromlu grubunun HDL kolesterol değeri kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p > 0,05$) (Tablo 6).

Hasta ve kontrol grubunun serum biyokimyasal düzeylerinin karşılaştırılması

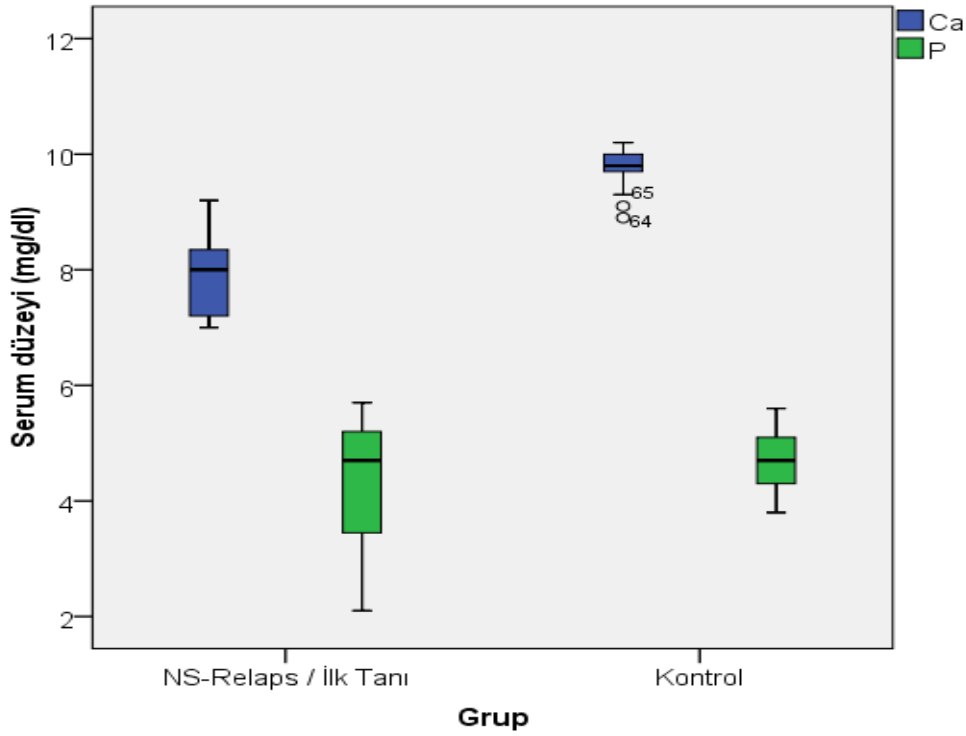
Nefrotik sendromlu grupta; albumin düzeyi $1,39 \pm 0,8$ g/dl, üre düzeyi 24 ± 14 mg/dl, kreatinin düzeyi $0,41 \pm 0,35$ mg/dl, ürik asit düzeyi $3,6 \pm 1,0$ mg/dl, alkalen fosfataz düzeyi 178 ± 83 U/L idi. Kontrol grubunda; albumin düzeyi $4,0 \pm 0,3$ g/dl, üre düzeyi 24 ± 6 mg/dl, kreatinin düzeyi $0,45 \pm 0,05$ mg/dl, ürik asit düzeyi $2,8 \pm 0,6$ mg/dl, alkalen fosfataz düzeyi 220 ± 61 U/L idi.

Nefrotik sendromlu grupta albumin düzeyi ölçümü sonucu kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı, nefrotik sendromlu çocuklarda albumin düzeyi azalmış olarak bulundu ($p < 0,05$) (Tablo 6).

Nefrotik sendromlu grubunun üre, kreatinin ve alkalen fosfataz değerleri kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p > 0,05$) (Tablo 6).

Nefrotik sendromlu grupta; ürik asit düzeyi ölçümü sonucu kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı, nefrotik sendromlu çocuklarda ürik asit düzeyi artmış olarak bulundu ($p < 0,05$) (Tablo 6).

Nefrotik sendromlu hastaların akut dönemlerinde ölçülen serum kalsiyum (Ca) ve fosfor (P) düzeylerinin sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırması Şekil 5' te görülmektedir.



Şekil 5. Nefrotik sendromun akut dönemi ve sağlıklı kontrollerde serum kalsiyum (Ca) ve fosfor (P) düzeyleri

Nefrotik sendromlu grupta; serum kalsiyum düzeyi $7,9 \pm 0,7$ mEq/L, fosfor düzeyi $4,4 \pm 1,0$ mEq/L idi. Kontrol grubunda; serum kalsiyum düzeyleri $9,8 \pm 0,3$ mEq/L, fosfor düzeyi $4,7 \pm 0,5$ mEq/L idi. Nefrotik sendromlu grupta; kalsiyum düzeyi ölçümü sonucu kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki vardı, nefrotik sendromlu hastalarda kalsiyum düzeyi anlamlı şekilde azalmış olarak bulundu ($p < 0,05$) (Tablo 6).

Nefrotik sendromlu grubunun fosfor değeri kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p > 0,05$) (Tablo 6).

4.3. Hasta ve Kontrol Grubunun ADMA, NO, GFR, hs-CRP, PTH, Ferritin, Folik Asit ve B12 Vitamini

Hasta ve kontrol grubu serum asimetrik dimetil arginin ve nitrik oksit düzeyleri, glomerüler filtrasyon hızları, yüksek duyarlı C-reaktif protein, parathormon, ferritin, B12 vitamini ve folik asit düzeyleri karşılaştırılarak nitrik oksit, ferritin ve B12 vitamini düzeylerinde anlamlı farklılıklar elde edildi (Tablo 7).

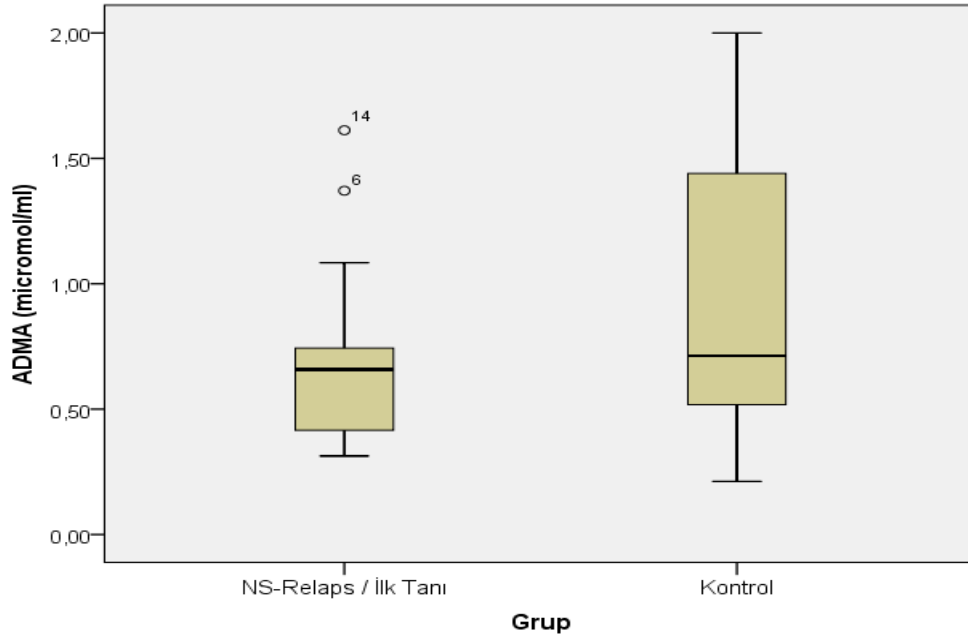
Tablo 7. Hasta ve kontrol grubu serum asimetrik dimetilarjinin (ADMA) ve nitrik oksit düzeyleri, glomerüler filtrasyon hızları (GFR), yüksek duyarlı C-reaktif protein (hs-CRP), parathormon (PTH), ferritin, B12 vitamini ve folik asit düzeyleri (ortalama±standart sapma)

	İlk tanı/Relaps NS (n=27)	Kontrol grubu (n=25)	p
ADMA, µmol/L	0,661±0,316	0,924±0,564	0,15
Nitrik oksit, µ M	14,42±8,35	8,96±4,46	0,007
GFR, ml/dk	100,5±19,1	102,2±10,2	0,89
hs-CRP, mg/dl	0,39±0,17	0,35±0,03	0,23
PTH, pg/dl	41±17	38±15	0,52
Ferritin, mg/dl	76±63	34±17	0,011
B12 vitamini, pg/ml	238±154	327±138	0,018
Folik asit, ng/ml	8,36±3,0	10,2±3,3	0,07

NS: Nefrotik sendrom, ADMA: Asimetrik Dimetilarjinin, GFR: Glomerüler Filtrasyon Hızı, hs-CRP: Yüksek Duyarlı C-Reaktif Protein, PTH: Parathormon

Hasta ve kontrol grubunun ADMA ve NO düzeylerinin karşılaştırılması

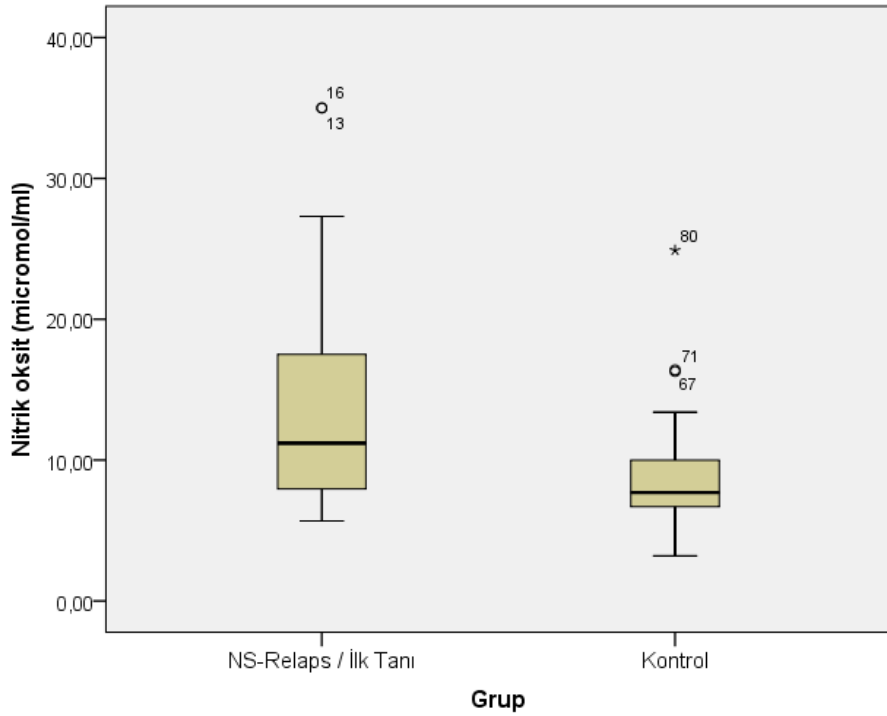
Nefrotik sendromlu grupta; ADMA düzeyi $0,661 \pm 0,316$ µmol/L, NO düzeyi $14,42 \pm 8,35$ µ M, idi. Kontrol grubunda; ADMA düzeyi $0,924 \pm 0,564$ µmol/L, NO düzeyi $8,96 \pm 4,46$ µ M, idi. Nefrotik sendromlu grubunun ADMA düzeyi kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$) (Tablo7). Hasta ve kontrol grubu serum asimetrik dimetil arginin (ADMA) düzeylerinin şematik karşılaştırmaları şekil 6' da görülmektedir.



Şekil 6. ADMA düzeyleri ($p>0.05$)

Nefrotik sendromlu grupta; NO düzeyi ölçümü sonucu kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı, nefrotik sendromlu çocuklarda NO düzeyi artmış olarak bulundu ($p<0.05$) (Tablo 7).

Hasta ve kontrol grubu serum nitrik oksit düzeylerinin şematik karşılaştırmaları şekil 7' de görülmektedir.



Şekil 7. NO düzeyleri (p<0.05)

Hasta ve kontrol grubunun GFR, CRP, PTH, ferritin, B12 vitamin ve folik asit karşılaştırılması

Nefrotik sendromlu grupta; GFR değeri $100,5 \pm 19,1$ ml/dk, hs-CRP düzeyi $0,39 \pm 0,17$ mg/dl, PTH düzeyi 41 ± 17 pg/dl, ferritin düzeyi 76 ± 63 mg/dl B12 vitamin düzeyi 238 ± 154 g/dl, folik asit düzeyi $8,36 \pm 3,0$ mg/dl idi. Kontrol grubunda; GFR değeri $102,2 \pm 10,2$ ml/dk, hs-CRP düzeyi $0,39 \pm 0,17$ mg/dl, PTH düzeyi 41 ± 17 pg/dl, ferritin düzeyi 76 ± 63 mg/dl B12 vitamin düzeyi 238 ± 154 g/dl, folik asit düzeyi $8,36 \pm 3,0$ mg/dl idi.

Nefrotik sendromlu grubunun glomerüler filtrasyon hızı, hs-CRP, parathormon düzeyi değeri kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$) (Tablo7).

Nefrotik sendromlu grupta; ferritin düzeyi ölçümü sonucu kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında hasta grubunda ferritin düzeyi artmış ve B12 vitamin düzeyleri azadığı ve bu durumun istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p<0.05$) (Tablo 7). Nefrotik sendromlu grubunun folik asit düzeyi ise kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$) (Tablo 7).

4.4. Hasta ve Kontrol Grubunun Tam Kan Sayımı

Hasta ve kontrol grubu tam kan sayımı sonuçlarının karşılaştırılması (ortalama±standart sapma) dağılımları Tablo 8’ de görülmektedir.

Nefrotik sendromlu grupta; hemoglobin düzeyi $11,9 \pm 1,2$ g/dl, hematokrit düzeyi $\% 37,0 \pm 3,0$, ortalama eritrosit hacmi $75,5 \pm 6,6$ fl idi. Kontrol grubunda; hemoglobin düzeyi $11,8 \pm 1,2$ g/dl, hematokrit düzeyi $\% 38,4 \pm 2,3$, ortalama eritrosit hacmi $76,7 \pm 9,3$ fl idi.

Tablo 8. Hasta ve kontrol grubu tam kan sayımı sonuçlarının karşılaştırılması (ortalama±standart sapma)

	İlk tanı/Relaps NS (n=27)	Kontrol grubu (n=25)	p
Hemoglobin, g/dl	11,9±1,2	11,8±1,2	0,97
Hematokrit, %	37,0±3,0	38,4±2,3	0,68
OEH, fl	75,5±6,6	76,7±9,3	0,61

NS: Nefrotik sendrom, OEH: Ortalama eritrosit hacmi

Hasta ve kontrol grubunun tam kan sayımı sonuçlarının karşılaştırılması

Nefrotik sendromlu grubun hemoglobin, ortalama eritrosit hacmi ve hematokrit düzeyleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$) (Tablo 8).

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda, ilk tanı ve relaps nefrotik sendromlu hasta grubu ile kontrol grubunda NO, ADMA ve distal karotis İMK çalışılarak, nefrotik sendromun tanısında ve izlenmesinde kullanılan rutin yöntemlerin yanı sıra endotel disfonksiyonunu gösteren bu biyobelirteçlerin kullanılabilirliği araştırıldı.

İmmün mekanizmaların, enfeksiyöz ajanların ve artmış inflamatuvar reaksiyonun nefrotik sendrom etyolojisinde sorumlu olduğu düşünülmektedir. Etyopatogeneizde suçlanan önemli faktörlerden biride endotel disfonksiyonudur. (6-8).

Çalışmamızda nefrotik sendromlu grupta; NO düzeyi ölçümü sonucu kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı, nefrotik sendromlu çocuklarda NO düzeyi artmış olarak bulundu ($p<0,05$). Bu sonuçlara dayanarak endotel disfonksiyonuna bağlı azalmış bulunması gereken nitrik oksit düzeyinin artmış olması, immün mekanizma ve inflamatuvar reaksiyonun nefrotik sendromun etyopatogenezinde daha belirgin rol aldığını göstermektedir.

Endotel fonksiyon bozuklukları birçok vasküler hastalığın etyolojisinde rol almaktadır. Endotel disfonksiyonu vazodilatasyonda etkili nitrik oksit yapımında azalmaya neden olur ve bu da ateroskleroz gelişiminde önemli rol oynar. Endotelin işlevindeki bozukluk aterosklerozu başlatmada rol oynayan etmenlerden birisidir. Aterosklerozun erken dönemde tespitinin kardiovasküler mortalite ve morbidite açısından çok önemli olmasından dolayı endotel disfonksiyonu erken dönemde tespit edilmelidir. . Endotel disfonksiyonu sonucunda endotelden salınan NO, nitrik oksit sentetaz inhibitörü olan ADMA ve İMK sağlıklı çocukla karşılaştırıldığında önemli farklar oluşmaktadır.

Nitrik oksit endotelden, birçok nörohormonal ajanlara veya fiziksel kuvvetlere yanıt olarak salgılanır. Mononükleer hücrelerin bozulmuş davranışlarından sorumlu moleküler sinyal mekanizmaları muhtemelen çok faktörlüdür ve inflamatuvar sitokinleri, LDL kolesterolü, platelet aktive edici faktörü, dolaşımdaki çözünür adezyon moleküllerini ve endotel kökenli nitrik oksitin azalmış biyoaktivitesini içermektedir. Tüm bu olası mekanizmaların sonucunda ortaya çıkan sonuç ise endotel fonksiyonlarında giderek artan kayıptır.

Balat ve ark. nefrotik sendromlu hastalarda plazma ve üriner nitrik oksit düzeyini sağlıklı kontrol ile karşılaştırdıklarında, nefrotik sendromlu hastaların plazma ve üriner nitrik oksit düzeyleri belirgin olarak artmış olduğunu tespit etmişler (191). Benzer bir çalışmayı Trachtman ve ark. yapmış ve nefrotik sendromlu hastalarda plazma nitrik oksit düzeyinin artmış olduğunu tespit etmişler (192).

Çalışmamızda ilk tanı-relaps nefrotik sendromlu grupta; total kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserit düzeyleri ölçümü sonucu kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak beklenildiği gibi anlamlı fark vardı, nefrotik sendromlu çocuklarda total kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserit düzeyleri artmış olarak bulundu ($p<0,05$). Valentini ve ark. yaptığı çalışmada nefrotik sendromda kolesterol, trigliserid, fosfolipid ve yağ asitlerinin plazma konsantrasyonu artmıştır (5,9).

Çalışmamızda nefrotik sendromlu grubunun ADMA düzeyi kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,15$). Ito ve arkadaşları okside LDL kolesterol veya TNF- α tarafından oksidasyon stresine maruz kalan endotel hücre kültürlerinde DDAH aktivitesinin azaldığını, ancak protein sentezinde bir değişim olmadığını göstermişlerdir (172). Benzer bir gözlem de hiperkolesterolemik tavşanların aort, böbrek ve karaciğer doku homojenatlarında izlenmiştir. Bu nedenle hiperkolesterolemi deki yükselmiş ADMA düzeylerine DDAH aktivitesindeki değişikliklerin katkısının olabileceği düşünülmektedir (145,147,172). Dimetil arjininler ayrıca böbrekler tarafından atılır ve kronik böbrek yetmezliğinde birikirler (141,145). Ancak ADMA birikimi, normal renal fonksiyonlarına karşın aterosklerotik insanlarda ve kolesterolle beslenen hayvanlarda da gösterilmiştir (144,145). Azalmış DDAH aktivitesi hiperkolesterolemi de ve hiperglisemide ADMA yükselmesinden sorumlu olabilir (145,146). Daha yakın zamanda Lücke ve ark. sporadik FSGS' li hasta çocuklar ve sağlıklı kontrol grubunun plazma ADMA düzeylerini karşılaştırmışlar, hasta FSGS' li çocuklarda plazma ADMA düzeyini artmış olarak tespit etmişler (193). Bu sonuçlara dayanarak nefrotik sendromlu çocuklarda total kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserit artışı plazma ADMA seviyesinde belirgin değişiklikler oluşturmamıştır.

Nefrotik sendromlu çocuklarda total kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserit düzeyleri artışı endotel disfonksiyonuna ve beraberinde kardiovasküler

komplikasyonlara neden olmaktadır. Distal ana karotis arterde İMK' nin non-invazif B-mode USG ile ölçümü klinik kardiovasküler komplikasyonlar için iyi bir belirteçtir, aterosklerozun ilerlemesini ve gerilemesini takip için epidemiyolojik ve klinik çalışmalarda kullanılan non-invazif bir yöntemdir (173–177). Risk faktörü olan çocuklarda yapılan ultrasonografik çalışmalarda aterosklerotik damar kalınlaşmaları gösterilmiştir (178–181). Longitudinal çalışmalarla çocuklukta ölçülen risk faktörlerinin düzeylerinin erişkinlikteki risk faktörü düzeylerinin ön belirteçleri olduğu gösterilmiştir (180,182-184). Ayrıca çocuklarda yapılan çalışmalarda ailesel hiperkolesterolemisi olanlarda İMK' nin belirgin olarak arttığı görülmüştür (179,181,185). Ultrasonografik yöntemle ölçülen ana karotid arter İMK prelinik aterosklerozun bir belirteci olarak kabul edilebilir çünkü vasküler risk faktörleri ile koreledir, koroner arter hastalığının ciddiyeti ve uzanımı ile ilişkilidir ve popülasyon gruplarında kardiyovasküler hadiselerin ihtimalini önceden tahmin edebilmektedir (176,180,181,185-188).

Çalışmamızda, ilk tanı-relaps nefrotik sendromlu hasta grubu ile sağlıklı çocuk kontrol grubunda sağ ve sol İMK kalınlıkları ölçüm sonucu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı, nefrotik sendromlu çocuklarda sağ İMK ve sol İMK artmış olarak bulundu ($p<0,05$). Çocukluk çağında tanımlanan kardiyovasküler risk faktörlerinin erişkin aterosklerozu ile ilişkili olduğu daha önceden Muscatine çalışması ile gösterilmişti. Mahoney ve arkadaşları çocuklarda ölçülen risk değerlerinin genç erişkinlerdeki koroner arter kalsifikasyonları ile ilişkili olduğunu göstermişlerdi (189). Daha yakın bir zamanda Davis ve arkadaşları 725 genç erişkinde karotis İMK ölçmüşler ve çocuklukta risk faktörleri ile erişkin karotis İMK arasında ilişki tespit etmişlerdir (190). Ksiazek ve arkadaşları idyopatik nefrotik sendromlu 50 hasta çocukta karotis İMK ölçmüşler, idyopatik nefrotik sendromlu 39 çocukta artmış olarak saptamışlardı (194). Bu sonuçlara dayanarak nefrotik sendromlu çocuklarda total kolesterol, LDL kolesterol, trigliserit artışı ve endotel disfonksiyonu intima media kalınlığının ve kardiyovasküler komplikasyonların artışına neden olduğu düşünülebilir. Hastalardaki İMK artışı nefrotik sendromun kardiyovasküler komplikasyonların erken belirteci olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Nefrotik sendromda hipertansiyon çok basit şikâyetten ensefalopatiye kadar uzanan klinik tabloda karşımıza çıkabilir (1,2,9,10). Hipertansiyon minimal lezyon hastalığı dışındaki diğer glomerüler lezyonlardan birine sahip hastalarda sık karşılaşılan bulgulardandır (9,10). Çalışmamızda nefrotik sendromlu grupta; kan basıncı ölçümü sonucu kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı, nefrotik sendromlu çocuklarda kan basıncı yüksek olarak ölçüldü ($p<0,05$). Bu çalışmada nefrotik sendromlu hastalarda intravasküler volümünün azalmış olmasına rağmen kan basıncı yüksekliği plazma renin-anjiotensin-aldesteron aktivitesinin kan basıncını belirlemede daha etkin olduğunu düşündürebilir.

Nefrotik sendromlu grupta; albumin düzeyi ölçümü sonucu kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı, nefrotik sendromlu çocuklarda albumin düzeyi azalmış olarak bulundu ($p<0,05$). Masif proteinüri sonucu oluşan hipoalbuminemi NS' un değişmez laboratuvar bulgusudur ve literatürle uyumlu bulundu.

Çalışmamızda nefrotik sendromlu hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu arasındaki üre, kreatinin, alkalen fosfataz, fosfor, hs-CRP, HDL kolesterol, parathormon, folik asit, hemogram ve glomerüller filtrasyon hız karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0,05$).

Nefrotik sendromlu grupta; ürik asit düzeyi ölçümü sonucu kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı, nefrotik sendromlu çocuklarda ürik asit düzeyi artmış olarak bulundu ($p<0,05$). Literatürlerin çoğunda azalmış GFR değeri ile ürik asit düzeylerinin artışı tespit edilmiş olmasına rağmen, çalışmamızda GFR değeri nefrotik sendromlu çocuklarda artmış olarak bulundu.

Nefrotik sendromlu grupta; kalsiyum düzeyi ölçümü sonucu kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki vardı, nefrotik sendromlu çocuklarda kalsiyum düzeyi azalmış olarak bulundu ($p<0,05$). Nefrotik sendromda kalsiyumun azalmış intestinal absorpsiyonu, parathormona uygun olmayan kalsiyum cevabı, albümine bağlı kalsiyum fraksiyonunun düşmesi ve D vitamini eksikliği hipokalsemi nedenleridir. Çalışma sonucumuz literatürle uyumlu bulundu.

Nefrotik sendromlu grupta; ferritin düzeyi ölçümü sonucu kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı, nefrotik sendromlu çocuklarda ferritin düzeyi artmış olarak bulundu ($p<0,05$). Kronik hastalarda ve tromboza eğilimde artan ferritin inflamatuvar yanıtın bir göstergesi olup literatürle uyumlu bulundu.

Nefrotik sendromlu grupta; B12 vitamini düzeyi ölçümü sonucu kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı, nefrotik sendromlu çocuklarda B12 vitamini düzeyi azalmış olarak bulundu ($p<0,05$). Nefrotik sendromlu hastalarda B12 vitamin düzeyini karşılaştıran literatüre tarayabildiğimiz kadarıyla rastlayamadık.

Sonuç olarak, nefrotik sendrom etyopatogenezinde immün mekanizmalar, enfeksiyöz ajanlar ve artmış inflamatuvar reaksiyonla beraber önemli faktörlerden biride endotel disfonksiyonudur. Nefrotik sendromlu çocuk hastaların plazmada değişen NO, ADMA gibi biyobelirteç düzeyi ve distal karotis İMK' lığı ölçülerek, nefrotik sendromunlu çocuk hastaların endotel disfonksiyonu, kardiovasküler morbidite ve mortalite nedenlerini erken dönemde tespit ederek, komplikasyonların azaltılmasına yönelik tedavi ve önlemlerin alınmasının nefrotik sendromlu çocuk hastaların prognozuna önemli katkı sağlayabileceği düşünüldü.

6. SONUÇLAR

Sonuç olarak, nefrotik sendrom etyopatogenezinde immün mekanizmalar, enfeksiyöz ajanlar ve artmış inflamatuvar reaksiyonla beraber önemli faktörlerden biride endotel disfonksiyonudur. Nefrotik sendromlu çocuk hastaların plazmada değişen NO, ADMA düzeyi ve distal karotis İMK' lığı ölçülerek, nefrotik sendromlu çocuk hastaların endotel disfonksiyonu, kardiovasküler morbidite ve mortalite nedenlerini erken dönemde tespit ederek, komplikasyonların azaltılmasına yönelik tedavi ve önlemlerin alınmasının nefrotik sendromlu çocuk hastaların prognozuna önemli katkı sağlayabileceği düşünüldü.

1. Nefrotik sendromlu hasta grubunun yaş ortalaması ve cinsiyet dağılımı kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$).
2. Nefrotik sendromlu grubunun boy ve ağırlık ortalaması kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0.05$) (Tablo 5).
3. Nefrotik sendromlu grupta; kan basıncı ölçümü sonucu kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı, nefrotik sendromlu çocuklarda kan basıncı yüksek olarak ölçüldü ($p<0,05$) (Tablo 5).
4. Nefrotik sendromlu grupta karotis İMK' ları kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı, nefrotik sendromlu çocuklarda sağ-sol karotis İMK' ları artmış olarak bulundu ($p<0,05$).
5. Nefrotik sendromlu grupta; total kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserit düzeyleri ölçümü sonucu kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı, nefrotik sendromlu çocuklarda total kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserit düzeyleri artmış olarak bulundu ($p<0,05$) (Tablo 6).
6. Nefrotik sendromlu grubun HDL kolesterol değeri kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$) (Tablo 6).
7. Nefrotik sendromlu grupta albumin düzeyi ölçümü sonucu kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı, nefrotik sendromlu çocuklarda albumin düzeyi azalmış olarak bulundu ($p<0,05$) (Tablo 6).

8. Nefrotik sendromlu grupta; NO düzeyi ölçümü sonucu kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı, nefrotik sendromlu çocuklarda NO düzeyi artmış olarak bulundu ($p<0.05$) (Tablo 7).
9. Nefrotik sendromlu grubunun ADMA düzeyi kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$) (Tablo 7).
10. Nefrotik sendromlu grupta; kalsiyum düzeyi ölçümü sonucu kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki vardı, nefrotik sendromlu hastalarda kalsiyum düzeyi anlamlı şekilde azalmış bulundu ($p<0,05$) (Tablo 6).
11. Nefrotik sendromlu grubunun fosfor değeri kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$) (Tablo 6).
12. Nefrotik sendromlu grupta; ürik asit düzeyi ölçümü sonucu kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı, nefrotik sendromlu çocuklarda ürik asit düzeyi artmış olarak bulundu ($p<0.05$) (Tablo 6).
13. Nefrotik sendromlu grubunun üre, kreatinin ve alkalen fosfataz değerleri kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$) (Tablo 6).
14. Nefrotik sendromlu grubunun glomerüler filtrasyon hızı, hs-CRP, parathormon düzeyi değeri kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$) (Tablo7).
15. Nefrotik sendromlu grupta; ferritin düzeyi ölçümü sonucu kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında hasta grubunda ferritin düzeyi artmış ve B12 vitamin düzeyleri azadığı ve bu durumun istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p<0.05$) (Tablo 7).
16. Nefrotik sendromlu grubunun folik asit düzeyi ise kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$) (Tablo 7).
17. Nefrotik sendromlu grubun hemoglobin, ortalama eritrosit hacmi ve hematokrit düzeyleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$) (Tablo 8).

7. 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. 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.
4. 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.
5. Salcedo JR, Thabet MA, Latta K, Chan JC. Nephrosis in childhood. *Nephron*, 1995; 71(4):373–385.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. 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.

10. 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.
11. D'agati V. Pathologic classification of focal segmental glomerulosclerosis. *Semin Nephrol*, 2003;23(2):117-134.
12. Ferrario F, Rastaldi MP. Histopathological atlas of renal diseases. Membranoproliferative glomerulonephritis. *J Nephrol*, 2004;17(4):483–486.
13. 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.
14. Austin HA, Antonovych TT, MacKay K, Boumpas DT, Balow JE. Membranous nephropathy. *Ann Intern Med*, 1992;116(8):672–682.
15. Remuzzi G, Ruggenenti P, Benigni A. Understanding the nature of renal disease progression. *Kidney Int*, 1997;51(1):2–15.
16. Chesney R. The changing face of childhood nephrotic syndrome. *Kidney Int*, 2004; 66: 1294–1302.
17. Schwarz A. New aspects of the treatment of nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol*, 2001; 12: 44–47
18. Habashy D, Hodson EM, Craig JC. Interventions for steroid-resistant nephrotic syndrome: a systematic review. *Pediatr Nephrol*, 2003; 18: 906–912.
19. 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.
20. 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

21. 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.
22. 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.
23. Lewis DM, Tooke JE, Beaman M, Gamble J, Shore AC. Peripheral microvascular parameters in the nephrotic syndrome. *Kidney Int*, 1998;54:1261-1266
24. 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
25. Thabet MA, Salcedo JR, Chan JC. Hyperlipidemia in childhood nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*, 1993;7(5):559–566.
26. Olbricht CJ, Koch KM. Treatment of hyperlipidemia in nephrotic syndrome: time for a change? *Nephron*, 1992;62(2):125–129.
27. Appel G. Lipid abnormalities in renal disease. *Kidney Int*, 1991;39(1):169–183
28. 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
29. 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.
30. Ehrich JH, Brodehl J. Long versus standard prednisone therapy for initial treatment of idiopathic nephrotic syndrome in children: Arbeitsgemeinschaft für Padiatrische Nephrologie. *Eur J Pediatr*, 1993;152(4):357–361

31. Ksiazek J, Wyszynska T. Short versus long initial prednisone treatment in steroid-sensitive nephrotic syndrome in children. *Acta Paediatr*, 1995;84(8):889–893.
32. Bagga A, Hari P, Srivastava RN. Prolonged versus standard prednisolone therapy for initial episode of nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*, 1999;13(9):824–827.
33. 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.
34. Ekka BK, Bagga A, Srivastava RN. Single- versus divided-dose prednisolone therapy for relapses of nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*, 1997;11(5):597–599.
35. Filler G. Treatment of nephrotic syndrome in children and controlled trials. *Nephrol Dial Transplant*, 2003;18(16):75–78.
36. 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.
37. Yorgin PD, Krasher J, Al-Uzri AY. Pulse methylprednisolone treatment of idiopathic steroid-resistant nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*, 2001;16(3):245–250.
38. 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.
39. Gulati S, Kher V. Intravenous pulse cyclophosphamide –a new regime for steroid resistant focal segmental glomerulosclerosis. *Indian Pediatr*, 2000;37:141–148.
40. 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.

41. 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.
42. 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.
43. 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
44. 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 Report of the International Study of Kidney Disease in Children. *Lancet*, 1970;1(7654):959-961.
45. 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.
46. British Association for Paediatric Nephrology. Levamisole for corticosteroid-dependent nephrotic syndrome in childhood. *Lancet*, 1991;337(8757):1555–1557.
47. Mongeau JG, Robitaille PO, Roy F. Clinical efficacy of levamisole in the treatment of primary nephrosis in children. *Pediatr Nephrol*, 1988;2(4):398-401.
48. Davin JC, Merkus MP. Levamisole in steroid-sensitive nephrotic syndrome of childhood: the lost paradise? *Pediatr Nephrol*, 2005; 20: 10-14.
49. 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.
50. 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.

51. Sümegi V, Haszon I, Ivanyi B, Bereczki C, Papp F, Turi S. Long-term effects of levamisole treatment in childhood nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*; 2004;19: 1354–1360.
52. Meyrier A. Treatment of idiopathic nephrotic syndrome with cyclosporine A. *J Nephrol*, 1997;10(1):14–24.
53. Hoyer PF, Krull F, Brodehl J. Cyclosporin in frequently relapsing minimal change nephrotic syndrome. *Lancet*, 1986;2(8502):335.
54. Niaudet P, Habib R. Cyclosporin in the treatment of idiopathic nephrosis. *J Am Soc Nephrol*, 1994;5(4):1049–1056.
55. 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.
56. 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.
57. Loeffler K, Gowrishankar M, Yui V. Tacrolimus therapy in pediatric patients with treatment-resistant nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*, 2004; 19: 281–287.
58. 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.
59. Westhoff TH, van der Giet M. Tacrolimus in the treatment of idiopathic nephrotic syndrome. *Expert Opin Investig Drugs*, 2007;16 (7):1099-1110.
60. Briggs WA, Choi MJ, Scheel PJ. Successful mycophenolate mofetil treatment of glomerular disease. *Am J Kidney Dis*, 1998; 31: 213–217.
61. 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.

62. Cartwright ME, Jaenke RS. Effects of dietary protein and captopril on glomerular permselectivity in rats with unilateral nephrectomy. *Lab Invest*, 1988; 59(4) :492–499.
63. Remuzzi A, Puntorieri S, Battaglia C, Bertani T, Remuzzi G. Angiotensin converting enzyme inhibition ameliorates glomerular filtration of macromolecules and water and lessens glomerular injury in the rat. *J Clin Invest*, 1990;85(2):541–549.
64. Remuzzi A, Peticucci E, Ruggenti P, Mosconi L, Limonta M, Remuzzi G. Angiotensin converting enzyme inhibition improves glomerular size-selectivity in IgA nephropathy. *Kidney Int*, 1991;39(6):1267–1273.
65. 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.
66. McGill HC, McMahan CA and the Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY) Research Group. Determinants of Atherosclerosis in the Young. *Am J Cardiol*, 1998; 82: 30T- 36T.
67. Lefer AM and Ma XL. Decreased basal nitric oxide release in hypercholesterolemia increases neutrophil adherence to rabbit coronary artery endothelium. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1993; 13; 771- 776.
68. Ross R. Polypeptide growth factors and atherosclerosis. *Trends Cardiovasc Med*, 1991; 1: 277- 282,
69. Ross R. Cell biology of atherosclerosis. *Annu Rev Physiol*, 1995; 57: 791- 804.
70. Rothe G, Gabriel H, Kovacs E, Klucken J, Stöhr J, Kindermann W, Schmitz G. Peripheral blood mononuclear phagocyte subpopulations as cellular markers in hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1996; 16: 1437- 1447.
71. Chan JR, Böger RH, Bode-Böger SM, Tangphao O, Tsao PS, Blaschke TF and Cooke JP. Asymmetric Dimethylarginine Increases Mononuclear Cell Adhesiveness

in Hypercholesterolemic Humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000; 20; 1040-1046.

72. Gimbrone MA Jr. Vascular endothelium: an integrator of pathophysiologic, stimuli in atherosclerosis. *Am J Cardiol*, 1995;75: 67B- 70B.
73. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*, 1993; 362:801- 809.
74. Van Der Wall AC, Das PK, Tigges AJ, Becker AE. Macrophage differentiation in atherosclerosis. An in situ immunohistochemical analysis in humans. *Am J Pathol*, 1992; 141: 161- 168.
75. Stemme S, Holm J, Hasson GK. T lymphocytes in human atherosclerotic plaques are memory cells expressing CD45RO and the integrin VLA-1. *Arterioscler Thromb*, 1992; 12: 206- 211.
76. Jongkind JF, Verkerk A, and Hoogerbrugge N. Monocytes from patients with combined hypercholesterolemia-hypertriglyceridemia and isolated hypercholesterolemia show an increased adhesion to endothelial cells in vitro: II. Influence of intrinsic and extrinsic factors on monocyte binding. *Metabolism*, 1995; 44(3): 374- 378.
77. Theilmeier G, Chan JR, Zalpour C, Anderson B, Wang B-Y, Wolf A, McEvoy LM, Butcher EC, Tsao PS, Cooke JP. Adhesiveness of mononuclear cells in hypercholesterolemic humans is normalized by dietary L-arginine. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997; 17: 3557- 3564.
78. Couffignal T, Duplaa C, Labat L, Moreau C, Bietz I, Bonnet J. Effect of low density lipoprotein on monocyte adhesiveness to endothelial cells in vitro. *Atherosclerosis*, 1993; 99: 35- 45.
79. Hackman A, Abe Y, InsullWJr, Pownall H, Smith L, Dunn K, Gotto AM Jr, Ballantyne CM. Levels of soluble cell adhesion molecules in patients with dyslipidemia. *Circulation*, 1996; 93: 1334- 1338.

80. Stemme S, Hansson GK. Immune mechanisms in atherogenesis. *Ann Med*, 1994; 26: 141–146.
81. Gauthier TW, Scalia R, Murohara T, Guo JP, Lefler AM. Nitric oxide protects against leukocyte- endothelium interactions in the early stages of hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995; 15: 1652- 1659.
82. Schuschke DA, Saari JT, Ackermann DM, Miller FN. Progressive microcirculatory changes caused by hypercholesterolemia in rats. *Am J Physiol*, 1990; 258: H1464- H1469.
83. Özata M. Hiperlipoproteinemiler. *Temel İç Hastalıkları Kitabı. İçin, Ünal, Biberöglü, Akalın, Süleymanlar. Güneş Kitabevi Ltd Şti Ankara, 1996: 1500- 16*
84. Navab M, Imes SS, Yama SY, Hough GP, Ross LA, Bork RW, Valante AJ, Berliner JA, Drinkwater DC, Laks H, Fogelmann AM. Monocyte transmigration induced by modification of low density lipoprotein in cocultures of human aortic wall cells is due to induction of monocyte chemotactic protein 1 synthesis and is abolished by high density protein. *J Clin Invest*, 1991; 88: 2039- 2046.
85. Furchgott ML, Tsao PS, McEvoy LM, Drexler H, Butcher EC, Cooke JP. Enhanced endothelial adhesiveness in hypercholesterolemia is attenuated by L-arginine. *Circulation*, 1994; 89: 2176- 2182.
86. Tsao PS, Theilmeier G, Singer AH, Leung LLK, Cooke JP. L-Arginine attenuates platelet reactivity in hypercholesterolemic rabbits. *Arterioscler Thromb*, 14: 1529- 1533,1994
87. Omenn GS, Beresford SA, Motulsky AG. Preventing coronary heart disease: B vitamins and homocysteine [Editorial]. *Circulation*, 1998; 97: 421- 424.
88. Cocks TM, Angus JA. Endothelium- dependent relaxation of coronary arteries by noradrenaline and serotonin. *Nature*, 1983; 305: 627- 630.
89. Cohen RA, Shepherd TJ, Vanhoutte PM. Inhibitory role of the endothelium in the response of the isolated coronary arteries to platelets. *Science*, 1983; 221: 273- 274.

90. Cooke JP and Tsao PS. Is NO an endogenous antiatherogenic molecule? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1994; 14: 653- 655.
91. Garg UC, Hassid A. Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest*, 1989; 83: 1774- 1777.
92. Xiao J, Pang PKT. Does a general alteration in nitric oxide synthesis system occur in spontaneously hypertensive rats? *Am J Physiol*, 1994; 266: H272- H278.
93. Bath PMW, Hassall DG, Gladwin A-M, Palmer RMJ, Martin JF. Nitric oxide and prostacyclin: divergence of inhibitory effects on monocyte chemotaxis and adhesion to endothelium in vitro. *Arterioscler Thromb*, 1991; 11: 254- 260.
94. Radomski MW, Palmer RMJ, Moncada S. Comparative pharmacology of endothelium-derived relaxing factor, nitric oxide, and prostacyclin in platelets. *Br J Pharmacol*, 1987; 92: 181- 187.
95. Stamler JS, Mendelsohn ME, Amarante P, Smick D, Andon N, Davies PF, Cooke JP, Loscalzo J. N-acetylcysteine potentiates platelet inhibition by endothelium-derived relaxing factor. *Circ Res*, 1989; 65: 789- 795.
96. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. An L-arginine/ nitric oxide pathway present in human platelets regulates aggregation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990; 87: 5193- 5197.
97. Stamler JS, Mendelsohn ME, Amarante P, Smick D, Andon N, Davies PF, Cooke JP, Loscalzo J. N-acetylcysteine potentiates platelet inhibition by endothelium-derived relaxing factor. *Circ Res*, 1989; 65: 789- 795.
98. Anderson TJ, Gerhard MD, Meredith IT, Charbonneau F, Delagrangé D, Creager MA, Selwyn AP, Ganz P. Systemic nature of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Am J Cardiol*, 1995; 75: 71B- 74B.
99. Celermajer DS. Endothelial dysfunction: does it matter? Is it reversible? *J Am Coll Cardiol*, 1997; 30: 325- 333.

100. Drexler H. Endothelial dysfunction: clinical implications. *Prog Cardiovasc Dis*, 1997; 39: 287–324.
101. Miyazaki H, Matsuoka H, Cooke JP, Usui M, Ueda S, Okuda S and Imaizumi T. Endogenous Nitric Oxide Synthase Inhibitor: A Novel Marker of Atherosclerosis. *Circulation*, 1999; 99: 1141- 1146.
102. Nishida K, Harrison DG, Navas JP, Fisher A A, Dockery SP, Uematsu M, Ncrem RM, Alexander RW, Murphy TJ. Molecular cloning and characterization of the constitutive bovine aortic endothelial cell nitric oxide synthase. *J Clin Invest*, 1992; 90: 2092- 2096.
103. Ross R. Rous-Whipple Award Lecture: atherosclerosis: a defense mechanism gone awry. *Am J Pathol*, 1993; 143: 987- 1002.
104. Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction and atherosclerosis. *Eur Heart J*, 1997; 18 (suppl E):E19- E29.
105. Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, Robinson J, Deanfield JE. Endotheliumdependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *J Am Coll Cardiol*, 1994; 24: 1468- 1474.
106. Egashira K, Inou T, Hirooka Y, Yamada A, Maruoka Y, Kai H, Sugimachi M, Suzuki S, Takeshita A. Impaired coronary blood flow response to acetylcholine in patients with coronary risk factors and proximal atherosclerotic lesions. *J Clin Invest*, 1993; 91: 293- 297.
107. Quyyumi AA, Dakak N, Andrews NP, Husain S, Arora S, Gilligan DM, Panza JA, Cannon RO. Nitric oxide activity in the human coronary circulation: impact of risk factors for coronary atherosclerosis. *J Clin Invest*, 1995; 95: 1747- 1755.
108. Vita JA, Treasure CB, Nabel EG, McLenachan JM, Fish RD, Yeung AC, Vekshtein VI, Selwyn AP, Ganz P. Coronary vasomotor response to acetylcholine relates to risk factors for coronary artery disease. *Circulation*, 1990; 81: 491- 497.

109. Tsikas D, Sandmann J, Sava A, Lueßen P, Böger RH, Gutzki FM, Mayer B, Frölich JC. Assessment of nitric oxide synthase activity in vitro and in vivo by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 1990; 742: 143-153.
110. Tulenko TN, Sumner AE. The physiology of lipoproteins. *J Nucl Cardiol*, 2002; 9: 638- 649.
111. Brecht DS, Snyder SH. Isolation of nitric oxide synthetase, a calmodulin-requiring enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990; 87: 682- 685.
112. Förstermann U, Closs EI, Pollock JS, Nakane M, Schwarz P, Gath I and Kleinert H. Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension*, 1994; 23: 1121- 1131.
113. Schmidt HHHW, Pollock JS, Nakane M, Gorsky LD, Forstermann U, Murad F. Purification of a soluble isoform of guanylyl cyclase-activating-factor synthase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991; 88: 365- 369.
114. Hevel JM, White KA, Marietta MA. Purification of the inducible murine macrophage nitric oxide synthase: identification as a flavoprotein. *J Biol Chem*, 1991; 266: 22789- 22791.
115. Stuehr DJ, Cho HJ, Kwon NS, Weise MF, Nathan CF. Purification and characterization of the cytokine-induced macrophage nitric oxide synthase: an FAD- and FMN-containing flavoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991; 88: 7773- 7777.
116. Yui Y, Hattori R, Kosuga K, Eizawa H, Hiki K, Kawai C. Purification of nitric oxide synthase from rat macrophages. *J Biol Chem*, 1991; 266: 12544- 12547.
117. McMillan K, Brecht DS, Hirsch DJ, Snyder SH, Clark JE, Masters BS. Cloned, expressed rat cerebellar nitric oxide synthase contains stoichiometric amounts of heme, which binds carbon monoxide. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992; 89: 11141- 11145.

118. White KA, Marietta MA. Nitric oxide synthase is a cytochrome P-450 type hemoprotein. *Biochemistry*, 1992; 31: 6627- 6663.
119. Dun NL, Dun SL, Forstermann U, Tseng LF. Nitric oxide synthase immunoreactivity in rat spinal cord. *Neurosci Lett*, 1992; 147: 217- 220.
120. Hassall CJ, Saffrey MJ, Belai A, Hoyle CH, Moules EW, Moss J, Schmidt HH, Murad F, Forstermann U, Burnstock G. Nitric oxide synthase immunoreactivity and NADPH diaphorase activity in a subpopulation of intrinsic neurones of the guinea-pig heart. *Neurosci Lett*, 1992; 143: 65- 68.
121. Nakane M, Schmidt HH, Pollock JS, Forstermann U, Murad F. Cloned human brain nitric oxide synthase is highly expressed in skeletal muscle. *FEBS Lett*, 1993; 316: 175- 180.
122. Saffrey MJ, Hassall CJ, Hoyle CH, Belai A, Moss J, Schmidt HH, Forstermann U, Murad F, Burnstock G. Colocalization of nitric oxide synthase and NADPH-diaphorase in cultured myenteric neurones. *Neuroreport*, 1992; 3: 333- 336.
123. Schmidt HHHW, Gagne GD, Nakane M, Pollock JS, Miller MF, Murad F. Mapping of neural nitric oxide synthase in the rat suggests frequent co-localization with NADPH diaphorase but not with soluble guanylyl cyclase, and novel paraneural functions for nitrinergic signal transduction. *J Histochem Cytochem*, 1992; 40: 1439- 1456.
124. Sheng H, Schmidt HH, Nakane M, Mitchell JA, Pollock JS, Forstermann U, Murad F. Characterization and localization of nitric oxide synthase in non-adrenergic noncholinergic nerves from bovine retractor penis muscles. *Br Pharmacol*, 1992; 106: 768- 773.
125. Fickling SA, Williams D, Vallance P, Nussey SS, Whitley GS. Plasma concentrations of endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in normal pregnancy and pre-eclampsia [letter; comment]. *Lancet*, 1993; 342: 242- 243.
126. Folsom AR, Nieto FJ, McGovern PG, Tsai MY, Malinow MR, Eckfeldt JH, Hess DL, Davis CE. Prospective study of coronary heart disease incidence in relation to

- fasting total homocysteine, related genetic polymorphisms, and B vitamins: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation*, 1998; 98: 204- 210.
127. Nakane M, Mitchell J, Forstermann U, Murad F. Phosphorylation by calcium calmodulin-dependent protein kinase II and protein kinase C modulates the activity of nitric oxide synthase. *Biochem Biophys Res Commu*, 1991; 180: 1396- 1402.
128. Dawson TM, Steiner SP, Dawson VL, Dinerman JL, Uhl GR, Snyder SH. Immunosuppressant FK506 enhances phosphorylation of nitric oxide synthase and protects against glutamate neurotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993; 90: 9808- 9812.
129. Lyons CR, Orloff GJ, Cunningham JM. Molecular cloning and functional expression of an inducible nitric oxide synthase from a murine macrophage cell line. *J Biol Chem*, 1992; 267:6370- 6374.
130. Xie QW, Cho HJ, Calaycay J, Mumford RA, Swiderek KM, Lee TD, Ding A, Troso T, Nathan C. Cloning and characterization of inducible nitric oxide synthase from Mouse macrophages. *Science* 1992; 256: 225- 228.
131. Pollock JS, Nakane M, Buttery LK, Martinez A, Springall D, Polak JM, Forstermann U, Murad F. Characterization and localization of endothelial nitric oxide synthase using specific monoclonal antibodies. *Am J Physiol*, 1993; 265: C1379- C1387.
132. Myatt L, Brockman DE, Eis A, Pollock JS. Immunohistochemical localization of nitric oxide synthase in the human placenta. *Placenta*, 1993; 14: 487- 495.
133. Tracey WR, Pollock JS, Murad F, Nakane M, Forstermann U. Identification of a type III(endothelial-like) particulate nitric oxide synthase in LLC-PK1 kidney tubular epithelial cells. *Am J Physiol*, 1994; 266: C22- C28.
134. Lamontagne D, Pohl U, Busse R. Mechanical deformation of vessel wall and shear stress determine the basal release of endothelium- derived relaxing factor in the intact rabbit coronary vascular bed. *Circ Res*, 1992; 70: 123- 130.

135. Nygard O, Nordrehaug JE, Refsum H, Ueland PM, Farstad M, Vollset SE. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med*, 1997; 337: 230- 236.
136. Marsden PA, Heng HHQ, Scherer SW, Stewart RJ, Hall AV, Shi XM, Tsui LC, Schappert KT. Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene. *J Biol Chem*, 1993; 268: 17478- 17488.
137. Michel T, Li GK, Busconi L. Phosphorylation and subcellular translocation of endothelial nitric oxide synthase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993; 90: 6252- 6256.
138. Böger RH, Bode-Böger SM, Thiele W, Junker W, Alexander K, Frölich JC. Biochemical evidence for impaired nitric oxide synthesis in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation*, 1997; 95: 2068- 2074.
139. Kakimoto Y, Akazawa S. Isolation and identification of NG, NG and NG, NG dimethylarginine, N-epsilon-mono-, di-, and trimethyllysine, and glucosylgalactosyl- and galactosyl-delta-hydroxylysine from human urine. *J Biol Chem*, 1970; 245: 5751- 5758.
140. Ogawa T, Kimoto M, Watanabe H, Sasaoka K. Metabolism of NG, NG and NG, NG dimethylarginine in rats. *Arch Biochem Biophys*, 1987; 252: 526- 537.
141. Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet*, 1992; 339: 572- 575.
142. Berenson GS, for the Bogalusa Heart Study Research Group. Childhood Risk Factors Predict Adult Risk Associated with Subclinical Cardiovascular Disease: The Bogalusa Heart Study. *Am J Cardiol*, 2002; 90(suppl): 3L–7L.
143. Bode-Böger SM, Böger RH, Kienke S, Junker W, Frölich JC. Elevated L-arginine/dimethylarginine ratio contributes to enhanced systemic NO production by dietary L-arginine in hypercholesterolemic rabbits. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996; 219: 598- 603.

144. Böger RH, Bode-Böger SM, Phivthong-ngam L, Böhme M, Brandes RP, Mügge A, Frölich JC. Dietary L-arginine slows the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits: comparison with lovastatin. *Circulation*, 1997; 96: 1282-1290.
145. Böger RH, Bode-Böger SM, Sydow K, Heistad DD and Lentz SR. Plasma Concentration of Asymmetric Dimethylarginine, an Endogenous Inhibitor of Nitric Oxide Synthase, Is Elevated in Monkeys With Hyperhomocyst(e)inemia or Hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000; 20: 1557- 1564.
146. Ito A, Asagami T, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Tsuji H, Reaven GM, Cooke JP. Dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase: a mechanism of endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Circulation*, 1999; 100 [Suppl]: 1-473.
147. Böger RH and Bode-Böger S. Asymmetric Dimethylarginine, Derangements of the Endothelial Nitric Oxide Synthase Pathway, and Cardiovascular Disease. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 2000; 26: 539- 545.
148. Cayatte AJ, Palacino JJ, Horten K, Cohen RA. Chronic inhibition of nitric oxide production accelerates neointima formation and impairs endothelial function in hypercholesterolemic rabbits. *Arterioscler Thromb*, 1994; 14: 753- 759.
149. Naruse K, Shimizu K, Muramatsu M. Long-term inhibition of NO synthesis promotes atherosclerosis in the hypercholesterolemic rabbit thoracic aorta. *Arterioscler Thromb*, 1994; 14: 746- 752.
150. Böger RH, Bode-Böger SM, Brandes RP. Dietary L-arginine reduces the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits: Comparison with lovastatin. *Circulation*, 1997; 96: 1282- 1290.
151. Böger RH, Bode-Böger SM, Kinke S. Chronic dietary supplementation With L-arginine inhibits platelet aggregation and thromboxane A₂ synthesis in the hypercholesterolemic rabbits in vivo. *Cardiovasc Res*, 1998; 37: 756- 764.

152. Böger RH, Bode-Böger SM, Mügge A, Kienke S, Brandes R, Dwenger A, Frölich JC. Supplementation of hypercholesterolemic rabbit with L-arginine reduces the vascular release of superoxide anions and restores NO production. *Atherosclerosis*, 1995; 117: 273- 284.
153. Candipan RC, Wang BY, Buitrago R, Tsao PS, Cooke JP. Regression or progression: Dependency on vascular nitric oxide. *Arterioscler Thromb*, 1996; 16: 44-50.
154. Cooke JP, Singer AH, Tsao P. Antiatherosclerotic effects of L-arginine in the hypercholesterolemic rabbits. *J Clin Invest*, 1992; 90: 1168- 1172.
155. Malinow MR. Homocyst(e)ine and arterial occlusive diseases. *Journal of Internal Medicine*, 1994; 236: 603- 617.
156. Wilcken DEL, Guptab VJ. Cysteine – homocysteine mixed disulfide: differing plasma concentrations in normal men and women. *Clin Sci*, 1979; 57: 211- 215.
157. Rawal N, Rajpurohit R, Lischwe MA. Structural specificity of substrate for Sadenosylmethionine: protein arginine N-methyl-transferases. *Biochim Biophys Acta*, 1995; 1248: 11- 18.
158. Faraci FM, Brian JE, Heistad DD. Response of cerebral blood vessels to an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase. *Am J Physiol*, 1995; 269: H1522- H1527.
159. Kurose I, Wolf R, Grisham MB, Granger DN. Effects of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis on postcapillary venules. *Am J Physiol*, 1995; 268: H2224- H2231.
160. MacAllister RJ, Parry H, Kimoto M, Ogawa T, Russell RJ, Hodson H, Whitley GSJ, Vallance P. Regulation of nitric oxide synthesis by dimethylarginin dimethylaminohydrolase. *Br J Pharmacol*, 1996; 119: 1533- 1540.
161. Fickling SA, Williams D, Vallance P, Nussey SS, Whitley GS. Plasma concentrations of endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in normal pregnancy and pre-eclampsia [letter; comment]. *Lancet*, 1993; 342: 242- 243.

162. Fickling SA, Leone AM, Nussey SS, Vallance P, Whitley GSJ. Synthesis of NG-NG dimethylarginine by human endothelial cells. *Endothelium*, 1993; 1: 137- 140.
163. MacAllister RJ, Parry H, Kimoto M, Ogawa T, Russell RJ, Hodson H, Whitley GSJ, Vallance P. Regulation of nitric oxide synthesis by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Br J Pharmacol*, 1996; 119: 1533- 1540.
164. McDermott JR. Studies on the catabolism of NG-methylarginine, NG, NGdimethylarginine and NG, NG'-dimethylarginine in the rabbit. *Biochem J*, 1976; 154: 179- 184.
165. Böger RH, Sydow K, Borlak J, Thum T, Lenzen H, Schubert B. LDL Cholesterol upregulates synthesis of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in human endothelial cells. Involvement of S-adenosylmethionine-dependent methyltransferases. *Circ Res*, 2000; 87: 99- 105.
166. Böger RH, Zocalli C. ADMA: a novel risk factor that explains excess cardiovascular event rate in patients with end-stage renal disease. *Atherosclerosis Supplements*, 2003; 4: 23- 28.
167. Rawal N, Rajpurohit R, Lischwe MA. Structural specificity of substrate for Sadenosylmethionine: protein arginine N-methyl-transferases. *Biochim Biophys Acta*, 1995; 1248: 11- 18.
168. MacAllister RJ, Fickling SA, Whitley GSJ, Vallance P. Metabolism of methylarginines by human vasculature: implications for the regulation of nitric oxide synthesis. *Br J Pharmacol*, 1994; 112: 43- 48.
169. Anderstam B, Katzarski K, Bergstrom J. Serum levels of NG,NG- dimethyl-L-arginine, potential nitric oxide inhibitor in dialysis patient. *J Am Soc Nephrol*, 1997; 8: 1437- 1442.
170. Kielstein JT, Böger RH, Bode-Böger SM. Asymmetric Dimethylarginine plasma concentrations differ in patients with end-stage renal disease: Relationship to treatment method and atherosclerotic disease. *J Am Soc Nephrol*, 1999; 10: 694- 700.

171. MacAllister RJ, Rambausic MH, Vallance P. Concentration of dimethyl-L-arginine in the plasma of patients with end-stage renal failure. N, Butcher EC, Cooke JP. Enhanced endothelial adhesiveness in hypercholesterolemia is attenuated by L-arginine. *Circulation*, 1994; 89: 2176- 2182.
172. Ito A, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Ogawa T, Cooke JP. Novel mechanism for endothelial dysfunction: dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation*, 1999; 99: 3092- 3095.
173. Blakenhorn DH, Hodis HN. George Lyman Duff Memorial Lecture. Arterial imaging and atherosclerosis reversal. *Arterioscler Thromb*, 1994; 14: 177- 192.
174. Crouse JR 3d, Craven TE, Hagaman AP, Bond MG. Association of coronary disease with segment- specific intimal- medial thickening of the extracranial carotid artery. *Circulation*, 1995; 92: 1141- 1147.
175. Geroulakos G, O’Gorman DJ, Kalodiki E, Sheridan DJ, Nicolaides AN. The carotid intima- media thickness as a marker of the presence of severe symptomatic coronary artery disease. *Eur Heart J*, 1994; 15: 781- 785.
176. Hodis HN, Mack WJ, LaBree L, Selzer RH, Liu CR, Liu CH, and Azen SP. The role of carotid arterial intima-media thickness in predicting clinical coronary events. *Ann Intern Med*, 1998; 128: 262- 269.
177. Mack WJ, Selzer RH, Hodis HN, Erikson JK, Liu CR, Liu CH. One- year reduction and longitudinal analysis of carotid intima-media thickness associated with colestipol/ niacin Therapy. *Stroke*, 1993; 24: 1779- 1783.
178. Jarvisalo MJ, Jartti L, Nanto- Salonen K. Increased aortic intima- media thickness: a marker of preclinical atherosclerosis in high- risk children. *Circulation*, 2001; 104: 2943- 2947.
179. Pauciullo P, Iannuzzi A, Sartorio R. Increased intima- media thickness of the common carotid artery in hypercholesterolemic children. *Arterioscler Thromb*, 1994; 14: 1075- 1079.

180. Raitakari OT, Juonala M, Kähönen M, Taittonen L, Laitinen T, Mäki-Torkko N, Jarvisalo MJ, Uhari M, Jokinen E, Rönnemaa T, Akerblom HK, Viikari JSA. Cardiovascular risk factors in childhood and carotis artery intima-media thickness in adulthood. The Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *JAMA*, 2003; 290: 2277-2283.
181. Tonstad S, Joakimsen O, Stensland-Bugge E. Risk factors related to carotid intimamedia thickness and plaque in children with familial hypercholesterolemia and control subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1996; 16: 984- 991.
182. Mahoney LT, Lauer RM, Lee J, Clarke WR. Factors affecting tracking of coronary heart disease risk factors in children: the Muscatine Study. *Ann N Y Acad Sci*, 1991;623: 120- 132.
183. Porkka KV, Viikari JS, Taimela S, Dahl M, Akerblom HK. Tracking and predictiveness of serum lipid and lipoprotein measurements in childhood: a 12 year follow- up: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Am J Epidemiol*, 1994; 140: 1096- 1110.
184. Webber LS, Srinivasan SR, Wattigney WA, Berenson GS. Tracking of serum lipids and lipoproteins from childhood to adulthood: the Bogalusa Heart Study. *Am J Epidemiol*, 1991; 133: 884- 899.
185. Reinehr T, Kiess W, Sousa G, Stoffel-Wagner B, Wunsch R. Intima media thickness in childhood obesity: Relations to inflammatory marker, glucose metabolism, and blood pressure. *Metabolism Clinical and Experimental*, 2006; 55: 113- 118.
186. Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ, Hoffman A, Grobbee DE. Common carotid arter intima- media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotherdam Study. *Circulation*, 1997; 96: 1432- 1437.
187. Burke GL, Evans GW, Riley WA. Arterial wall thickness is associated with prevalent cardiovascular disease in middle- aged adults: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Stroke*, 1995; 26: 386- 391.

188. Chambless LE, Heiss G, Folsom AR. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study, 1987- 1993. *Am J Epidemiol*, 1997; 146: 483- 494.
189. Mahoney LT, Burns TL, Stanford W. Coronary risk factor measured in childhood and young adult life are associated with coronary artery calcification in young adults: the Muscatine Study. *J Am Coll Cardiol*, 1996; 27: 277- 284.
190. Davis PH, Dawson JD, Riley WA, Lauer RM. Carotid intima- medial thickness is related to cardiovascular risk factors measured from childhood through middle age: the Muscatine Study. *Circulation*, 2001; 104: 2815- 2819.
191. Balat A, Cekmen M, Yurekli M, Gulcan H, Kutlu O, Turkoz Y, Yologlu S. Adrenomedullin and nitrite levels in children with minimal change nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*, 2000; 15: 70–73.
192. Trachtman H, Gauthier B, Frank R, Futterweit S, Goldstein A, Tomczak J. Increased urinary nitrite excretion in children with minimal change nephrotic syndrome. *J Pediatr*, 1996; 128:173–176.
193. Lücke T, Kanzelmeyer N, Chobanyan K. Elevated asymmetric dimethylarginine (ADMA) and inverse correlation between circulating ADMA and glomerular filtration rate in children with sporadic focal segmental glomerulosclerosis (FSGS). *Nephrol Dial Transplant*, 2008; 23(2):734-740.
194. Ksiazek J, Niemirska A, Lipka M, Grenda R. Evaluation of arterial intima-media thickness (IMT) in children with idiopathic nephrotic syndrome. *Przegl Lek*, 2006; 63(3):205-207.

