

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

**KONJENİTAL VE İNFANTİL NEFROTİK SENDROMLU HASTALARDA
GENOTİP-FENOTİP İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Onur ÇİL

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

ANKARA

2014

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

**KONJENİTAL VE İNFANTİL NEFROTİK SENDROMLU HASTALARDA
GENOTİP-FENOTİP İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Onur ÇİL

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Nesrin BEŞBAŞ

ANKARA
2014

TEŞEKKÜR

Prof. Dr. Nesrin Beşbaş'a danışmanım olarak bu çalışmanın her aşamasındaki yol göstericiliği, yaptığı yardımlar ve pediatri eğitimime sağladığı değerli katkılar için teşekkür ederim.

Doç. Dr. Fatih Özaltın'a bu çalışmaya yaptığı değerli katkılar, genetik inceleme verilerinin yorumlanması konusunda yaptığı yardımlar ve değerli önerileri için teşekkür ederim.

Başta Prof. Dr. Hasan Özen ve Prof. Dr. Gülsev Kale olmak üzere Pediatri Anabilim Dalı'nın tüm öğretim üyeleri ve araştırma görevlilerine öğrettikleri, anlayışları ve eğitim sürem boyunca yaptıkları yardımlar için teşekkür ederim.

Pediyatrik Nefroloji Laboratuvarı çalışanlarına genetik analiz deneylerini gerçekleştirdikleri ve her aşamada yaptıkları yardımlar için teşekkür ederim.

Dr. Arda Çetinkaya'ya genetik bulguları değerlendirme konusunda yaptığı yardımlar için teşekkür ederim.

ÖZET

Çil, O. Konjenital ve infantil nefrotik sendromlu hastalarda genotip-fenotip ilişkisinin değerlendirilmesi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Ankara, 2014. Proteinüri, hipoalbuminemi, hiperlipidemi ve ödemle seyreden nefrotik sendrom özellikle hayatın ilk yılında görüldüğünde (konjenital ve infantil nefrotik sendrom) hayatı tehdit eden bir hastalıktır. Konjenital ve infantil nefrotik sendrom çoğunlukla glomerüler filtrasyon bariyerinin yapısal veya düzenleyici proteinlerini kodlayan genlerdeki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. Bu çalışmanın amacı Türk toplumunda 1 yaş altında görülen nefrotik sendroma neden olan genlerin sıklığını, bu genlerdeki mutasyonları ve genetik bozukluklarla hastaların klinik bulguları ve hastalık seyri arasındaki ilişkiyi geniş bir örneklemde incelemektir. Toplam 102 konjenital ve infantil nefrotik sendrom hastasında *NPHS1*, *NPHS2*, *WT1* ve *LAMB2* genleri sekanslandı ve saptanan mutasyonlar ile klinik bulgular arasında ilişki kuruldu. Hastaların %65'inde çalışılan 4 genden birisinde hastalığa neden olan mutasyonlar saptandı. Saptanan mutasyonların 15'i ilk kez bu çalışmada tanımlandı. Mutasyonlar en sık *NPHS1* geninde saptandı (%37). Mutasyon saptama oranı konjenital nefrotik sendromlu hastalarda infantil nefrotik sendromlu hastalara göre iki kat daha yüksek bulundu (%73'e karşılık %36). Konjenital nefrotik sendrom hastalarında en sık mutasyon saptanan gen *NPHS1* (%46) iken infantil nefrotik sendrom hastalarında *NPHS2* (%14) ve *WT1* (%14) idi. *NPHS1* mutasyonu saptanan hastalarda hastalık başlangıcının daha erken olduğu görüldü. *NPHS2* mutasyonu saptanan hastaların sağkalım oranı diğer genlerde mutasyon saptanan hastalara göre anlamlı olarak yüksek bulundu. *NPHS1* mutasyonu saptanan kız çocuklarında sağkalım oranı erkeklere göre belirgin olarak yüksek bulundu. *NPHS1* geninde saptanan ve proteinin ekstraselüler bölgesini ilgilendiren mutasyonların daha kötü sağkalımla ilişkili olduğu görüldü. Bu bulgular Türk toplumunda konjenital ve infantil nefrotik sendroma neden genetik bozuklukları ve bu bozukluklar ile prognoz arasındaki ilişkiyi açıkça ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Konjenital nefrotik sendrom, infantil nefrotik sendrom, *NPHS1*, *NPHS2*, *WT1*, *LAMB2*

ABSTRACT

Çil, O. Investigation of genotype-phenotype association in congenital and infantile nephrotic syndrome patients. Hacettepe University Faculty of Medicine Department of Pediatrics Residency Thesis, Ankara, 2014.

Nephrotic syndrome which is characterised with proteinuria, hypoalbuminemia, hyperlipidemia and edema is a lethal disease especially in the first year of life (congenital and infantile nephrotic syndrome). The mutations in genes coding structural and regulatory proteins of glomerular filtration barrier are the main causes of congenital and infantile nephrotic syndrome. This study aims to investigate the frequency of the genes responsible from nephrotic syndrome in the first year of life, the mutations in Turks and the relationship between genetic disorders and clinical findings in a large group of patients. We sequenced *NPHS1*, *NPHS2*, *WT1* and *LAMB2* genes in 102 congenital and infantile nephrotic syndrome patients and we correlated the genetic findings with clinical data. We detected mutations in one of these 4 genes in 65% of the patients. 15 of these mutations were novel. Most of the mutations were detected in *NPHS1* (%37). Mutation detection rate was two-folds higher in congenital nephrotic syndrome patients than infantile nephrotic syndrome patients (73% vs 36%). In congenital nephrotic syndrome patients most of the mutations were detected in *NPHS1* (46%). In infantile nephrotic syndrome patients most of the mutations were in *NPHS2* (%14) and *WT1* (%14). Age at disease onset was significantly earlier in patients with *NPHS1* mutations. Survival of the patients with *NPHS2* mutations was significantly better than patients with mutations in other genes. Female patients with *NPHS1* mutations had better survival rates compared to males with *NPHS1* mutations. *NPHS1* mutations affecting the extracellular domain of the protein were associated with worse survival rates compared with mutations affecting other domains of the protein. These results clearly demonstrate the genetic disorders causing congenital and infantile nephrotic syndrome in Turkey and association of genetic disorders with prognosis.

Key Words: Congenital nephrotic syndrome, infantile nephrotic syndrome, *NPHS1*, *NPHS2*, *WT1*, *LAMB2*

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Glomerüler Filtrasyon Bariyeri	3
2.2. Nefrotik Sendrom	4
2.3. Konjenital ve İnfantil Nefrotik Sendrom	11
2.4. Konjenital ve İnfantil Nefrotik Sendromda Tanı	11
2.5. Konjenital ve İnfantil Nefrotik Sendromda Tedavi	14
2.5.1. Albumin İnfüzyonu	15
2.5.2. İlaç Tedavisi	15
2.5.3. Beslenme	16
2.5.4. Nefrektomi	16
2.5.5. Böbrek Transplantasyonu	16
2.6. Nefrotik Sendromun Komplikasyonları	17
2.6.1. Enfeksiyöz Komplikasyonlar	17
2.6.2. Tromboembolik Komplikasyonlar	18
2.6.3. Kardiyovasküler Hastalık	19
2.6.4. Diğer Komplikasyonlar	19
2.7. Konjenital ve İnfantil Nefrotik Sendromun Genetiği	19
2.7.1. <i>NPHS1</i> ve Nefrin	19
2.7.2. <i>NPHS2</i> ve Podosin	21
2.7.3. <i>WT1</i> ve İlişkili Bozukluklar	22
2.7.4. <i>LAMB2</i> ve Pierson Sendromu	23
2.8. Amaç	24

3. YÖNTEM	25
3.1. Hasta Seçimi	25
3.2. Genetik Çalışmalar	26
3.3. İstatistiksel Analiz	32
4. SONUÇLAR	33
4.1. Genel Sonuçlar ve Demografik Özellikler	33
4.2. Mutasyon Saptanan Genlere Göre Hastaların Özellikleri	35
4.3. Hastalarda Saptanan Böbrek Dışı Bulgular	37
4.4. Hastalara Uygulanan Tedaviler ve Hastaların Prognozları	37
4.5. Hastalarda Saptanan Mutasyonlar	42
4.5.1. <i>NPHS1</i>	42
4.5.2. <i>NPHS2</i>	48
4.5.3. <i>WT1</i>	49
4.5.4. <i>LAMB2</i>	49
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	61
KAYNAKLAR	62
EK-1: Standart Klinik Bilgi Formu	

SİMGELER VE KISALTMALAR

SDNS	Steroide Dirençli Nefrotik Sendrom
SDBH	Son Dönem Böbrek Hastalığı
GBM	Glomerüler Bazal Membran
SHNS	Steroide Hassas Nefrotik Sendrom
KDIGO	Kidney Disease: Improving Global Outcomes
FSGS	Fokal Segmental Glomerüloskleroz
DMS	Diffüz Mezangiyal Skleroz
NS	Nefrotik Sendrom
OD	Otozomal Dominant
OR	Otozomal Resesif
MDN	Minimal Değişiklik Nefropatisi
KNS	Konjenital Nefrotik Sendrom
AD	Aralık Diyaframı
ADEİ	Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim İnhibitörü
<i>NPHS1</i>	Nefrozis 1
<i>NPHS2</i>	Nefrozis 2
<i>WT1</i>	Wilms Tümör 1
<i>LAMB2</i>	Laminin beta 2
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1 Glomerüler filtrasyon bariyerinin şematik yapısı (a). Aralık diyaframındaki nefrin-podosin kompleksi ve bununla ilişkili bazı sinyal yolları (b). Podosit-glomerüler bazal membran ara yüzündeki moleküller ve ayaksı çıkıntıların aktin hücre iskeleti ile bağlantıları (c).	4
2.2 Glomerüler kapillerin kesitsel görünümü ve glomerüler filtrasyon bariyerinin elektron mikroskopik görüntüsü.	13
4.1 Mutasyon saptanan genlere göre hastalık başlangıç yaşı.	36
4.2 Mutasyon saptanan genlere göre hastaların yaşamın ilk iki yılında sağkalım analizi.	41
4.3 <i>NPHS1</i> mutasyonu saptanan hastalarda cinsiyete göre yaşamın ilk iki yılında sağkalım analizi.	41
4.4 <i>NPHS1</i> mutasyonu saptanan hastalarda cinsiyete göre hastalık başlangıç yaşı.	42
4.5 Hastalarda saptanan <i>NPHS1</i> mutasyonlarının proteindeki yerleşimleri.	45
4.6 <i>NPHS1</i> mutasyonu saptanan hastalarda mutasyon tipi ile hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki.	46
4.7 <i>NPHS1</i> mutasyonu saptanan hastalarda mutasyon tipi ile sağkalım arasındaki ilişki.	46
4.8 <i>NPHS1</i> mutasyonu saptanan hastalarda mutasyon pozisyonu ile sağkalım arasındaki ilişki.	47
4.9 <i>NPHS1</i> mutasyonu saptanan hastalarda mutasyon pozisyonu ile hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki.	47
4.10 <i>NPHS2</i> mutasyonu saptanan hastalarda mutasyon tipi ile hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki.	49

TABLOLAR

Tablo		Sayfa
2.1	Nefrotik sendromun genetik formları.	9
2.2	Konjenital nefrotik sendromun etyolojisi.	12
2.3	Konjenital ve infantil nefrotik sendromun yönetimi.	15
3.1	Polimeraz zincir reaksiyonu için kullanılan primerler.	27
4.1	Hastaların başlangıçtaki demografik, klinik ve laboratuvar bulguları.	34
4.2	Hastalarda saptanan böbrek dışı bulgular.	38
4.3	Hastalara uygulanan tedaviler, periton diyalizi ve renal transplantasyon uygulanma durumu ve eksitus olma durumu.	40
4.4	Hastalarda saptanan <i>NPHS1</i> mutasyonları.	43
4.5	Hastalarda saptanan <i>NPHS2</i> mutasyonları.	48
4.6	Hastalarda saptanan <i>WT1</i> mutasyonları.	50
4.7	Hastalarda saptanan <i>LAMB2</i> mutasyonları.	50

1. GİRİŞ

Proteinüri, hipoalbuminemi, hiperlipidemi ve ödemle seyreden nefrotik sendrom çocukluk çağında sık görülen bir kronik hastalıktır (1). Nefrotik sendromda tedavinin temel taşı steroidler oluşturmaktadır. Nefrotik sendromlu çocukların yaklaşık %90'ında steroid tedavisine yanıt alınırken geriye kalan %10'luk grupta steroid tedavisine yanıt alınamamaktadır ve bu durum steroide dirençli nefrotik sendrom (SDNS) olarak adlandırılmaktadır (2). SDNS hastaları nefrotik sendromun komplikasyonları açısından risk altındadır ve bu hastalarda 10 yıllık takipte %30-40 oranında son dönem böbrek hastalığı (SDBH) geliştiği görülmüştür (3,4). Kronik bir hastalık olan nefrotik sendrom tedavisinde karşılaşılan bir başka sorun da başta steroidler olmak üzere tedavide kullanılan ilaçların ciddi yan etkilerinin olmasıdır. Glomerüler filtrasyon bariyerinin genetik nedenlere bağlı primer defektlerinden kaynaklanan nefrotik sendrom tipik olarak steroid ve diğer immünosupresif ilaçlara yanıt vermemekte ve nihayetinde hemen hemen tüm vakalarda SDBH'ye ilerlemektedir (5). Nefrotik sendromlu hastalarda hastalığa neden olan genetik faktörlerin aydınlatılması hastaların işe yaramayacak yoğun tedavileri almasına engel olmaktadır. Bu nedenle nefrotik sendromlu çocuklarda genetik inceleme yapılması çok önemlidir (2).

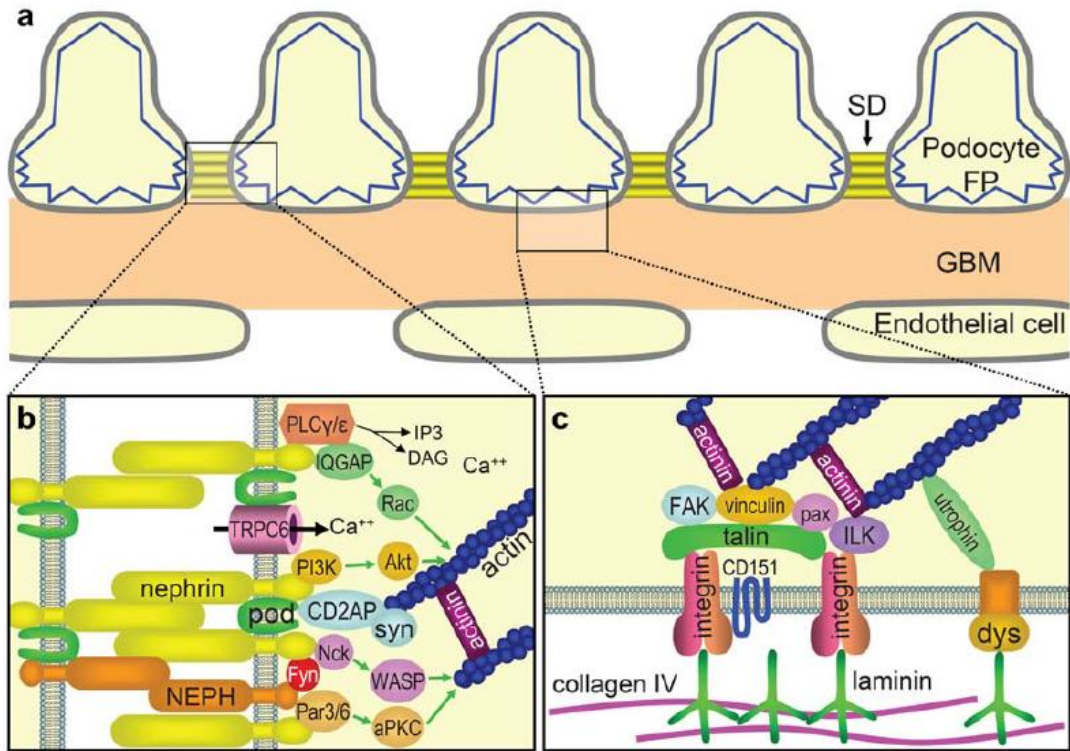
Çocuklarda nefrotik sendrom, hastalığın başlangıç zamanına göre üç alt gruba ayrılmaktadır: konjenital nefrotik sendrom (0-3 ay), infantil nefrotik sendrom (4 ay-1 yaş) ve çocukluk çağı nefrotik sendromu (>1 yaş) (2). Konjenital ve infantil nefrotik sendrom çoğunlukla moleküler bir elek işlevi gören glomerüler filtrasyon bariyerinin yapısal veya düzenleyici proteinlerini kodlayan genlerdeki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır (6). Yapılan bir çalışmada 1 yaş altındaki nefrotik sendrom hastalarının 2/3'ünde glomerüler filtrasyon bariyerinin oluşumunda ve regülasyonunda önemli roller üstlenen proteinleri kodlayan *NPHS1*, *NPHS2*, *WT1*, *LAMB2* genlerinden birinde mutasyonların saptandığı gösterilmiştir (7).

Bu çalışmada bir yaş altında görülen nefrotik sendroma neden olan genlerde mutasyon saptanma sıklığı ve genetik bozukluklarla hastaların klinik bulguları ve hastalık seyri arasındaki ilişki geniş bir rnekleimde incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Glomerüler Filtrasyon Bariyeri

Böbrek glomerülleri her gün onlarca litre ultrafiltrat üretir ve bu ultrafiltrat büyük ölçüde hücresel ve makromoleküler kan bileşenlerini içermez. Ultrafiltratın serum proteinlerini içermemesinin en önemli nedeni glomerüler filtrasyon bariyerinin seçici geçirgen özelliğindedir (8). Kan dolaşımı ile üriner boşluğu ayıran glomerüler filtrasyon bariyeri 3 tabakadan oluşur: fenestralı endotel, glomerüler bazal membran (GBM) ve podositlerin ayakları (foot processes) (Şekil 2.1). Glomerüler bazal membran tip IV kollajen, laminin, nidogen ve kan dolaşımındaki proteinleri elektrostatik olarak tutan negatif yüklü proteoglikanların oluşturduğu ve vücuttaki diğer birçok bazal membrandan kalın olan bir protein ağıdır (6,9). Podositler GBM'nin dış yüzeyinde yer alan epitelyal hücrelerdir ve ayakları çıkıntılarının kompleks mimarisini oluşturmada büyük öneme sahip olan aktin-temelli bir kontraktil ağıdır (8). Podositlerde eksprese edilen çeşitli proteinler aralık diyaframından podositlere sinyal iletiminde de kritik roller oynar (10). Podositlerin ayakları çıkıntılarının aralık-diyaframı (*slit-diaphragm*) adlı yapılarla birbirine bağlanmaktadır. Glomerüler filtrasyon bariyeri boyut ve yük seçici bir moleküler elek işlevi görür ve fizyolojik koşullarda sadece su ve bazı plazma solütlerinin kan dolaşımından üriner boşluğa geçişine izin verir. Albumin ve diğer büyük plazma proteinlerinin geçişi özellikle GBM ve aralık-diyaframı tarafından büyük ölçüde engellenir ve bu sayede ultrafiltrattaki protein miktarı çok düşük düzeydedir (6). Glomerüler filtrasyon bariyerinin yapısının bozulması bu seçici geçirgenlik özelliğinin kaybolmasına neden olur ve bu durumda albumin gibi makromoleküller idrarda görülebilir. Ağır glomerüler protein kaybı nefrotik sendrom adı verilen ve ağır proteinüri, hypoalbuminemi ve ödem ile karakterize olan klinik duruma neden olur. Nefrotik sendrom böbreğin boşaltıcı fonksiyonları bozulmadan ortaya çıkabileceği gibi, birçok durumda ilerleyici glomerüler hasara bağlı olarak SDBH de gelişebilir (8).



Şekil 2.1: Glomerüler filtrasyon bariyerinin şematik yapısı (a). Aralık diyaframındaki nefrin-podosin kompleksi ve bununla ilişkili bazı sinyal yolları (b). Podosit-glomerüler bazal membran ara yüzündeki moleküller ve ayaklı çıkıntılarının aktin hücre iskeleti ile bağlantıları (c). Zenker ve diğerleri (8)'nden alınmıştır.

2.2. Nefrotik Sendrom

Nefrotik sendrom birçok böbrek hastalığı ile ilişkili olarak görülebilirse de, çocukluk çağında nefrotik sendrom en sık olarak idiyopatik nefrotik sendrom şeklinde görülür ve idiyopatik nefrotik sendromda tipik olarak nefrit bulguları ve eşlik eden böbrek dışı hastalık bulguları gözlenmez (1). İdiopatik nefrotik sendromun Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa'da insidansı 100.000 çocukta 2-7, prevalansı 100.000 çocukta 16 olarak bildirilmektedir (1). Proteinüri (>40 mg/m²/saat veya spot idrar protein/kreatinin oranı >2 mg/mg veya ≥300 mg/dl veya dipstik ile 3+), hipoalbuminemi (<2.5 g/dl), hiperlipidemi ve ödemle seyreden nefrotik sendrom özellikle hayatın ilk

yılında görüldüğünde hayatı tehdit eden bir hastalıktır (7). Nefrotik sendromlu çocukların yaklaşık %90'ında steroid tedavisine yanıt alınır (steroide hassas nefrotik sendrom-SHNS) ve bu hastaların uzun dönem prognozu iyidir. Geriye kalan %10'luk grupta steroid tedavisine yanıt alınamamaktadır ve bu durum steroide dirençli nefrotik sendrom (SDNS) olarak adlandırılmaktadır (2). SDNS hastaları nefrotik sendromun komplikasyonları açısından risk altındadır ve bu hastalarda 10 yıllık takipte %30-40 oranında SDBH geliştiği görülmüştür (3,4). SHNS hastaları ise hastalığın relapsı ve uzun süreli steroid maruziyeti ile ilişkili morbidite riski altındadır (11). Günümüzde nefrotik sendrom tedavisinde kullanılan tedaviler: oral steroidler, intravenöz steroidler, siklofosamid gibi sitotoksik ajanlar, mikofenolat mofetil, siklosporin A, takrolimus ve plazmaferez tedavisidir. Bu tedavilere ek olarak başka hastalıklarda kullanılan rituksimab, galaktoz, adalimumab, tiazolidinediyonlar gibi bazı ilaçlar da nefrotik sendrom tedavisinde kullanılabilir (11). Nefrotik sendromda tedavinin temel taşı steroidler oluşturmaktadır ve başta steroidler olmak üzere tedavide kullanılan ilaçların ciddi yan etkileri mevcuttur. Nefrotik sendromlu hastalarda hastalığa neden olan genetik faktörlerin aydınlatılması hastaların işe yaramayacak yoğun tedavileri almasına engel olmaktadır. Bu nedenle nefrotik sendromlu çocuklarda genetik inceleme yapılması çok önemlidir (2).

Steroid tedavisine verilen yanıtı göre nefrotik sendrom hastalarının sınıflandırılması aşağıda belirtilmiştir (12,13):

- Tam remisyon: Spot idrar protein/kreatinin <0.2 (mg/mg) veya 3 gün üst üste dipstik ile negatif veya eser
- Kısmi remisyon: Proteinürinin başlangıca göre %50'den fazla azalması ve spot idrar protein/kreatinin 0.2-2 (mg/mg) arasında olması
- Remisyon yok: Proteinürinin başlangıca göre %50'den daha az azalması ve spot idrar protein/kreatinin >2 (mg/mg) olması
- Relaps: Remisyondan sonra spot idrar protein/kreatinin >2 (mg/mg) veya dipstik ile 3-5 gün üst üste $\geq 2+$

- Sık relaps gösteren: İlk tedaviden sonra 6 ay içinde ≥ 2 relaps veya herhangi bir 12 aylık dönemde ≥ 4 relaps
- Steroid-bağımlı: Steroid dozu azaltılırken veya kesildikten sonra 2 hafta içinde relaps
- Steroid-dirençli: 8 haftalık steroid tedavisi ile remisyon sağlanamaması

Çocuklarda Nefrotik Sendrom Konsensus Konferansı (*The Children's Nephrotic Syndrome Consensus Conference*) tarafından nefrotik sendromda önerilen başlangıç tedavisi şu şekildedir (12):

İlk 6 hafta boyunca 2 mg/kg/gün veya 60 mg/m²/gün (maksimum günlük doz: 60 mg) oral prednizon tedavisinin günde tek doz olarak verilmesi, ikinci 6 hafta boyunca ise 1.5 mg/kg veya 40 mg/m² (maksimum günlük doz: 40 mg) oral prednizon tedavisinin tek doz olarak gün aşırı verilmesi önerilmektedir. Bu 12 haftalık tedavinin sonunda doz azaltılması yapılmadan steroid tedavisinin kesilmesi önerilmektedir. Bu yaklaşımın herhangi bir dezavantajı olmadığı gibi uzamış glukokortikoid maruziyetine bağlı yan etkileri de sınırlayabileceği düşünülmektedir (12).

Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Böbrek Vakfı (*National Kidney Foundation*) tarafından idare edilen ve 2003 yılında kurulan KDIGO (*Kidney Disease: Improving Global Outcomes*) dünya genelinde böbrek hastalıklarının yönetimini iyileştirmeyi amaçlamaktadır. Bu kuruluş tarafından 2013 yılında çocuklarda SHNS ve SDNS tedavisi için kılavuzlar yayınlanmıştır (13,14). KDIGO'nun SHNS için önerdiği başlangıç tedavisi ise şu şekildedir (13):

Bu hastalara steroid (prednizon veya prednizolon) tedavisinin en az 12 hafta verilmesi önerilmektedir. Oral steroid tedavisine günde tek doz olarak 2 mg/kg/gün veya 60 mg/m²/gün (maksimum günlük doz: 60 mg) dozunda başlanması ve 4-6 hafta boyunca bu dozda verilmesi önerilmektedir. Sonrasında tedavi dozunun gün aşırı olarak 1.5 mg/kg veya 40 mg/m²'ye (maksimum doz: 40 mg) azaltılması ve 2-5 ay boyunca doz azaltılması yapılarak tedaviye devam edilmesi önerilmektedir.

SHNS'nin genel olarak ve SDNS'nin immünosupresif tedaviye yanıt veren veya böbrek transplantasyonu sonrası rekürrens gözlenen bir alt grubunun altta yatan bir immünolojik defekte bağlı olarak geliştiği düşünülmektedir (5). Bu immünolojik defektin T hücre disfonksiyonu sonrasında üretilen ve dolaşımda bulunan tanımlanmamış bir proteinürük faktörün oluşumuna neden olduğu düşünülmektedir (15). Yapılan çalışmalarda sıçan glomerüllerinin fokal segmental glomerüloskleroz (FSGS) hastalarının serumları ile in vitro olarak inkübe edildikten sonra glomerüllerin albumine geçirgenliğinin arttığı gözlenmiştir (16,17). Buna karşın glomerüler filtrasyon bariyerinin kalıtsal yapısal bozukluklarının SDNS hastalarının çok önemli bir kısmında hastalık gelişiminden sorumlu olduğu son çalışmalarda gösterilmiştir (2). Transplantasyon sonrası rekürrens gözlenmeyen SDNS ve ailesel SDNS vakaları genel olarak glomerüler filtrasyon bariyerinin primer defektlerinden kaynaklanmaktadır ve tipik olarak steroid ve diğer immünosupresif ilaçlara yanıt vermemekte ve nihayetinde hemen hemen tüm vakalarda SDBH'ye ilerlemektedir (5).

Genel olarak SHNS'li çoğu vakada histolojik olarak böbreklerde ışık mikroskopisinde normal glomerüller ve elektron mikroskopisinde podosit ayakları-çıkıntılarının düzleşmesi görülürken (minimal değişiklik nefropatisi), SDNS vakalarında histolojik olarak FSGS veya diffüz mezangiyal skleroz (DMS) görülür (5). FSGS'de glomerüllerde immunkompleks birikiminin yokluğunda glomerüllerin bazılarında görülen segmental skleroza ek olarak podosit ayakları-çıkıntılarında düzleşme görülür. DMS ise mezangiyal matriks artışı, podositlerde hipertrofi ve kaldırım taşı görünümü ile karakterizedir. Nihayetinde FSGS ve DMS daha uzun süreli ve ciddi podosit hasarının göstergesidir ve ilerleyici podosit kaybı ve glomerüler skarlaşma ile sonuçlanır(5).

Nefrotik sendrom oldukça heterojen bir hastalıktır ve yaş-bağımlı olarak genetik ve genetik dışı faktörler hastalığın gelişiminde önemli rol oynarlar. Hayatın ilk yılında görülen nefrotik sendrom çoğunlukla monogenik genetik nedenlere bağlıken, daha büyük çocuklarda genetik dışı

(immünolojik ve enfeksiyöz) ve multifaktöriyel patogeneze hastalık gelişiminden sorumlu tutulmaktadır (8). Nefrotik sendromun genetik formları izole böbrek hastalığı şeklinde görülebileceği gibi böbrek dışı bulguları da içeren sendromik bir bozukluğun parçası olarak da görülebilir. Nefrotik sendromun genetik formları Tablo 2.1'de özetlenmiştir. Nefrotik sendromun farklı kalıtsal nedenlerinin tek tek görülme sıklığı düşük olmasına rağmen glomerüler filtrasyon bariyerinin yapısının ve fizyolojisinin anlaşılmasında bu hastalıkların önemli katkısı olmuştur (15).

Tablo 2.1: Nefrotik sendromun genetik formları. Zenker ve diğerleri (8)'nden alınmıştır, son yıllarda bulunan yeni genler eklenmiştir (18-21). NS: nefrotik sendrom, OR: otozomal dominant, OR: otozomal resesif, MDN: minimal değişiklik nefropatisi, FSGS: fokal segmental glomerüloskleroz, DMS: diffüz mezangiyal skleroz

Hastalık adı	Gen	Gen ürünü	Kalıtım	Histoloji	Başlangıç yaşı (yıl)	Penetrans
Fin Tipi NS	<i>NPHS1</i>	Nefrin	OR	MDN	0-0.5	%100
Tip 2 NS (OR steroid dirençli NS)	<i>NPHS2</i>	Podosin	OR	MDN, FSGS	0-3	%100
Tip 3 NS (Ailesel DMS)	<i>PLCE1</i>	Fosfolipaz Cε1	OR	DMS, FSGS	0.5-4	İnkomplet?
FSGS1-3	<i>ACTN4</i>	α-Aktinin 4	OD	FSGS	5-40	İnkomplet?
	<i>CD2AP</i>	CD2-ilişkili protein	OD/OR			
	<i>TRPC6</i>	Geçici reseptör potansiyel katyon kanalı C6	OD			
Denys-Drash Sendromu	<i>WT1</i>	WT1 proteini	OD	DMS (FSGS)	0.5-4	%100
Frasier Sendromu						
İzole DMS						
Pierson Sendromu	<i>LAMB2</i>	Laminin β2	OR	DMS, FSGS	0-0.5	%100
Schimke immunösossez displazi	<i>SMARCAL1</i>	SMARCA-benzeri protein	OR	FSGS	0.5-6	%100
Tırnak-patella sendromu	<i>LMX1B</i>	LIM homeobox transkripsiyon faktörü 1β	OD	FSGS	2-50	%40
Galloway-Mowat Sendromu	<i>Bilinmiyor</i>	Bilinmiyor	OR	DMS, FSGS	0-10	%100

Tablo 2.1 (devam): Nefrotik sendromun genetik formları. Zenker ve diğerleri (8)'nden alınmıştır, son yıllarda bulunan yeni genler eklenmiştir (18-21). NS: nefrotik sendrom, OR: otozomal dominant, OR: otozomal resesif, MDN: minimal değişiklik nefropatisi, FSGS: fokal segmental glomerüloskleroz, DMS: diffüz mezangiyal skleroz

Hastalık adı	Gen	Gen ürünü	Kalıtım	Histoloji	Başlangıç yaşı (yıl)	Penetrans
CDG Sendromu (Ia, Ik)	<i>PMM2</i>	Fosfomannomutaz 2	OR	FSGS	Değişken	Düşük
	<i>ALG1</i>	B-1,4-mannoziltransferaz				
(Nefro)-Siyalidozis	<i>NEU1</i>	Nöraminidaz	OR	?	Değişken	Düşük
Koenzim Q10 eksikliği	<i>COQ2</i>	Parahidroksibenzoat-polipreniltransferaz	OR	Collapsing glomerülopati	Değişken	Düşük
	<i>PDSS2</i>	Pirenil difosfat sentaz altbirim 2		FSGS		
Mitokondriyal bozukluklar, MELAS vb.	<i>mtDNA</i> <i>tRNA^{Leu}</i> <i>tRNA^{Tyr}</i>	Mitokondriyal transfer RNA	Mitokondriyal	FSGS	Değişken	Düşük
Son yıllarda tanımlanan genler	<i>PTPRO</i>	Glomerüler epitelyal protein-1	OR	MDN, FSGS	5-14	?
	<i>EMP2</i>	Epitelyal membran proteini-2	OR	MDN	1-3	?
	<i>ANKS6</i>	Anks6	OR	Glomeüloskleroz	1.5-6	?
	<i>TTC21B</i>	IFT139	OR	FSGS	9-30	?

2.3. Konjenital ve İnfantil Nefrotik Sendrom

Çocuklarda görülen nefrotik sendrom hastalığının başlangıç zamanına göre üç alt gruba ayrılmaktadır: konjenital nefrotik sendrom (başlangıç yaşı <3 ay), infantil nefrotik sendrom (başlangıç yaşı 4 ay-1 yaş arasında), çocukluk çağı nefrotik sendromu (başlangıç yaşı >1 yaş) (2). Konjenital nefrotik sendrom primer genetik nedenlere bağlı olarak görülebileceği gibi özellikle çeşitli intrauterin veya edinilmiş enfeksiyonlara sekonder olarak da görülebilir (Tablo 2.2). Hayatın ilk yılında başlayan nefrotik sendrom (konjenital ve infantil nefrotik sendrom) çoğunlukla glomerüler filtrasyon bariyerinin yapısal veya düzenleyici proteinlerini kodlayan genlerdeki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır (6,7). Yapılan bir çalışmada 1 yaş altındaki nefrotik sendrom hastalarının 2/3'ünde glomerüler filtrasyon bariyerinin oluşumunda ve regülasyonunda önemli roller üstlenen proteinleri kodlayan *NPHS1*, *NPHS2*, *WT1*, *LAMB2* genlerinden birinde mutasyonların olduğu gösterilmiştir (7). Bu dört gen tarafından kodlanan proteinlerin glomerüler filtrasyon bariyerindeki yerleşim yerleri Şekil 2.2'de gösterilmiştir.

2.4. Konjenital ve İnfantil Nefrotik Sendromda Tanı

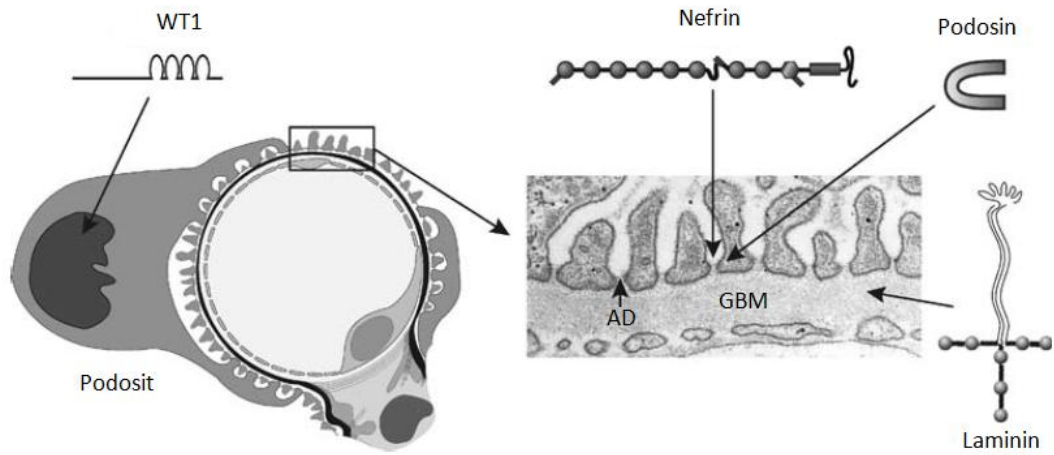
Konjenital nefrotik sendromun ağır formlarında yaygın ödem, ağır proteinüri ve hipoalbuminemi doğumdan hemen sonra saptanabilir, bazı vakalarda ise klinik bulgular hayatın ilk haftalarına kadar tanınmayabilir (2). Mikroskopik hematüri hemen hemen tüm hastada mevcuttur. Böbrek fonksiyon testleri çok değişkendir. *NPHS1* mutasyonu olan hastalarda böbrek fonksiyonları ilk aylarda genelde normal seyrederek, fakat başka formlarda böbrek yetmezliği daha hızlı gelişebilir (6).

Konjenital Fin Tipi Nefrotik Sendrom'lu yenidoğanlarda plasenta ağırlığının doğum ağırlığının %25'inden fazla olması tipiktir, fakat konjenital nefrotik sendromun diğer formlarında da bu bulgu saptanabilmektedir (22). Ultrasonografide böbrek boyutları normal veya hafif artmış olabilir, fakat genellikle böbrek korteksi hiperekojeniktir (6). Böbrek dışı malformasyonların taranması çok önemlidir, çünkü etiyolojiye yönelik olarak çok değerli ipuçları

sağlayabilir. Bunların arasında genital anomaliler (*WT1*) ve göz defektleri (*LAMB2*) açısından özellikle dikkatli olunmalıdır (2).

Tablo 2.2: Konjenital nefrotik sendromun (KNS) etyolojisi. Jalanko (6)'dan alınmıştır.

Primer KNS	Nefrin gen mutasyonları (<i>NPHS1</i> , Fin tipi KNS)
	Podosin gen mutasyonları (<i>NPHS2</i>)
	<i>WT1</i> mutasyonları (Denys-Drash sendromu, izole KNS)
	<i>LAMB2</i> mutasyonları (Pierson sendromu, izole KNS)
	<i>PLCE1</i> mutasyonları
	<i>LMX1B</i> mutasyonları (tırnak-patella sendromu)
	<i>LAMB3</i> mutasyonları (Herlitz junctional epidermolizis bülloza)
	Mitokondriyal miyopatiler
	Beyin ve diğer malformasyonların eşlik ettiği veya etmediği KNS (henüz tanımlanmış gen yok)
Sekonder KNS	Konjenital sifiliz
	Toksoplazma, Sıtma
	CMV, kızamıkçık, hepatit B, HIV
	Maternal SLE
	Nötral endopeptidaza karşı neonatal antikorlar
	Maternal steroid-klorfeniramin tedavisi



Şekil 2.2: Glomerüler kapillerin kesitsel görünümü (sol) ve glomerüler filtrasyon bariyerinin elektron mikroskopik görüntüsü (sağ). WT1 podosit fonksiyonu için önemli bir transkripsiyon faktörüdür. Nefrin podositlerin ayakları çıkıntılarını bağlayan aralık-diyaframının (AD) esas bileşenidir. Podosin AD bölgesinde intraselüler yerleşimli bir adaptör proteindir. Laminin glomerüler bazal membranın esas yapısal proteinlerindedir. Jalanko (6)'dan alınmıştır.

Böbrek biyopsisi konjenital nefrotik sendrom etyolojisini aydınlatmada çok yardımcı değildir (6,23). Genetik nedenlere bağlı nefrotik sendromda mezangiyal ekspansiyon, FSGS, minimal glomerüler değişiklikler ve DMS gibi birçok farklı glomerüler lezyonlar görülebilir, ayrıca tüm bu patolojik bulguların üst üste bindiği durumlar görülebilir. Glomerül dışı bulgular olarak tübüler dilatasyon, interstisyel fibrozis ve inflamasyon tüm proteinürik hastalıklarda görülebilir. Bu nedenlerle biyopsi endikasyonları çok açık değildir. Nefrin veya podosin için immunhistokimya yapma imkanı varsa biyopsi örneklerinde bu proteinlerin ekspresyonunun incelenmesi faydalıdır (6). Ayrıca yapılan bir çalışmada histolojik bulgular ile genetik defekt ve klinik seyir arasında çok net bir ilişki olmadığı görülmüştür (23).

Konjenital ve infantil nefrotik sendromun kesin tanısı için kullanılan yöntem genetik incelemedir ve bu hastaların tümüne yapılması önerilmektedir (24). Bu yöntemle etyolojinin saptanması hastalık prognozunun ve yönetiminin belirlenmesi, gelişebilecek bulgular açısından takip ve aileye verilecek genetik danışma için yararlıdır. Tüm konjenital ve

infantil nefrotik sendrom hastalarında *NPHS1* ve *NPHS2* incelemesi önerilmektedir. Eğer bu genlerde mutasyon saptanmazsa veya *WT1* ya da *LAMB2* mutasyonu düşündürecek klinik bulguların varlığında bu genlerin incelenmesi de yapılmalıdır (6).

Konjenital nefrotik sendrom öyküsü olan ailelerin sonraki gebeliklerinde prenatal tanı yapılmalıdır. Eğer ailedeki mutasyon biliniyorsa sonuç daha erken elde edilebilir. Etkilenen çocuğun mutasyonunun bilinmediği durumlarda prenatal genetik tanı zordur, çünkü çok sayıda ekzon içeren bu genlerin dizi analizi zaman alıcıdır (2). Maternal serumda veya amniyotik sıvıda α -fetoprotein düzeylerinin artmış olması *NPHS1* mutasyonları için tipiktir (6). Özellikle ultrasonografide anensefali veya diğer malformasyonların saptanmadığı durumlarda *NPHS1* mutasyonu olası tanıdır. Fakat heterozigot fetal *NPHS1* mutasyonu taşıyıcılarında da maternal serum ve amniyotik sıvıda geçici olarak artmış α -fetoprotein düzeyleri görülebilir, bu nedenle yüksek α -fetoprotein düzeyi varlığında 20. gebelik haftasından önce amniyotik sıvıda α -fetoprotein ölçümünün tekrarlanması önerilmektedir (25).

2.5. Konjenital ve İnfantil Nefrotik Sendromda Tedavi

Çocuk çağı nefrotik sendrom vakalarının çoğunun aksine konjenital ve infantil nefrotik sendrom hastalarında steroid veya diğer immünosupresif tedaviler remisyonu sağlamaz (2). İlk aylarda tedavide amaç ödemi ve olası böbrek yetmezliğini kontrol etmek, enfeksiyon ve tromboz gibi komplikasyonların gelişimini önlemek ve gelişmeleri durunda tedavi etmek, ayrıca çocuğun normal büyümesini ve gelişimini sağlayacak beslenme desteği vermektir. Bu hastalarda böbrek transplantasyonu tek küratif tedavidir (6). Bu hastalarda kullanılan tedavi yöntemleri Tablo 2.3'te belirtilmiştir.

Tablo 2.3: Konjenital ve infantil nefrotik sendromun yönetimi. Jalanko (6)'dan alınmıştır. ADEİ: anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü.

Parenteral protein	%20'lik albumin infüzyonu (3-4 g/kg/gün)
Beslenme	Hiperkalorik diyet (130 kcal/kg/gün)
	Protein takviyesi (4 g/kg/gün)
	Lipid takviyesi (kolza tohumu/ayçiçek yağı)
	A, D, E ve suda çözünen vitaminler
	Kalsiyum ve magnezyum takviyesi
İlaç tedavisi	Antiproteinürik ilaçlar (ADEİ, indometazin)
	Tiroksin suplementasyonu
	Antikoagülasyon (aspirin, varfarin)
	Bakteriyel enfeksiyon şüphesinde parenteral antibiyotik

2.5.1. Albumin İnfüzyonu

Ağır ve sürekli proteinüri kaçınılmaz olarak hayatı tehdit edici ödem, protein malnutrisyonu, büyüme hızında azalma ve sekonder komplikasyonlara yol açar. Bu durumda parenteral albumin infüzyonu ile protein yerine koyma tedavisinin mutlaka yapılması gerekir (6). Konjenital Fin tipi nefrotik sendrom hastalarında santral kateter kullanarak yapılacak %20'lik albumin infüzyonları sonrası tek doz furosemid (0.5 mg/kg) yapılması önerilmektedir (26). Protein yerine koyma tedavisi hipoproteinemiye geçici olarak düzeltmektedir, fakat hastalarda ödemin giderilmesi konusunda etkilidir (6).

2.5.2. İlaç Tedavisi

Bazı konjenital nefrotik sendrom hastalarında anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri (ADEİ) ve indometazin kullanımı ile proteinüride azalma bildirilmiştir (27), fakat ağır *NPHS1* veya *NPHS2* mutasyonu olan vakalarda bu tedavilerin işe yaramadığı düşünülmektedir (6). Artmış üriner protein atılımı nedeniyle nefrotik sendrom hastalarında sıklıkla serum tiroksin ve tiroksin bağlayıcı globulin düzeyleri düşüktür. Hastalık başlangıcında TSH düzeyleri normal olsa da sıklıkla takipte artış gösterir. Bu

hastalarda tiroid hormon replasmanı gerektiğinde kullanılmalıdır (28). İdrarla artmış protein kaybına bağlı olarak nefrotik sendrom hastalarında plazma koagülasyon faktörleri düzeylerinde meydana gelen dengesizlikler hiperkoagülabiliteye katkıda bulunur. Bu nedenle bu hastalarda tromboz açısından dikkatli olunmalıdır, fakat rutin antikoagülasyon önerilmemektedir (1). Konjenital Fin Tipi nefrotik sendrom hastalarında uzun süreli varfarin tedavisi ile başarılı antikoagülasyon sağlandığı bildirilmiştir (6).

2.5.3. Beslenme

Konjenital ve infantil nefrotik sendrom hastaları geleneksel olarak yüksek enerjili (130 kcal/kg/gün) ve yüksek proteinli (3-4 g/kg/gün) diyet ile beslenmektedirler (26). Bu hastalar ayrıca vitamin D suplementasyonu (400 IU/gün), aynı yaştaki sağlıklı çocuklara önerilen dozlarda multivitamin takviyesi, magnezyum (50 mg/gün) ve kalsiyum (500-1000 mg/gün) verilmelidir. Bazı hastalarda yeterli kalori alımını sağlamak için nazogastrik sonda ile besleme gerekebilir (6).

2.5.4. Nefrektomi

Bazı merkezlerde bu hastalara unilateral nefrektomi uygulanmakta ve böylece protein kaybı azaltılarak hastanın yönetimi kolaylaştırılmakta ve renal transplantasyon ileri bir yaşa ertelenebilmektedir (29). Bir diğer yaklaşım erken dönemde bilateral nefrektomi yaparak periton diyalizine başlamak ve böylece nefrotik döneme bağlı komplikasyonlardan sakınmaktır. Bu hastalara ilerleyen dönemlerde böbrek transplantasyonu da uygulanmaktadır. Üçüncü bir yaklaşım ise erken preemtif renal transplantasyon yapmak ve aynı seansta bilateral nefrektomi de uygulamaktır (6).

2.5.5. Böbrek Transplantasyonu

Konjenital ve infantil nefrotik sendromda en etkin tedavi yöntemi renal transplantasyondur. Bu hastalarda transplantasyon genellikle 1-2 yaşında yapılmaktadır ve erişkin böbrekleri ile yapılan transplantasyon cerrahi olarak zahmetli olabileceği gibi trombotik ve üreteral komplikasyonlar açısından da büyük çocuklara göre daha risklidir (6). Transplantasyon sonrası rejeksiyonun önlenmesi için uygun immünosupresif tedaviler kullanılmalıdır.

Bu hastalarda nefrotik sendromun rekürrensi çok nadirdir ve *NPHS1* mutasyonu olan bazı hastalarda anti-nefrin antikoru gelişimine bağlı olarak bildirilmiştir (30). Rekürrenslerin plazmaferez ve siklofosamid ile tedavisi genellikle remisyon sağlamaktadır, bu tedavilere yanıt vermeyen hastalarda rituksimab tedavisi de kullanılmaktadır (30,31).

Bu hastalara yapılan transplantasyon sonrası 5 yıllık hasta sağ kalımı %90'ın üzerindedir, graft sağ kalımı ise çeşitli merkezlerde ve veri tabanlarında %80'in üzerinde bildirilmiştir (32,33). Bu hastalarda kronik allograft nefropatisi önemli bir problemdir ve genç erişkin yaşta ikinci renal transplantasyon ihtiyacı kaçınılmazdır (6).

2.6. Nefrotik Sendromun Komplikasyonları

Nefrotik sendromun komplikasyonları oldukça ciddidir. Bu komplikasyonlar nefrotik dönemde görülen akut komplikasyonlar ve uzun dönemde nefrotik sendromun kendisine veya uygulanan tedavilere bağlı olarak gelişen komplikasyonlar olarak ikiye ayrılır (1).

2.6.1. Enfeksiyöz Komplikasyonlar

Selülit ve spontan bakteriyel peritonit gibi ciddi bakteriyel enfeksiyonlar nefrotik sendrom hastalarında sık görülür ve bu hastaların %2-6'sında peritonit gelişmektedir (34). İdrar ile gama globulinlerin ve kompleman faktörlerinin kaybı, immüno-supresif tedavi kullanımı, asit varlığı ve ayrıca birçok hastada santral kateterlerin varlığı nefrotik sendrom hastalarında bakteriyel enfeksiyonlara yatkınlık yaratmaktadır (1,6). İdrar ile kompleman proteinlerinin kaybı düşük serum faktör B ve I düzeylerine ve kompleman bağımlı opsonizasyonda bozulmaya yol açar, böylece *Streptococcus pneumonia* gibi kapsüllü bakterilerin vücuttan temizlenmesi zorlaşır (35). Bu nedenle Amerikan Pediatri Akademisi tarafından tüm nefrotik sendrom hastalarına pnömokok aşısı yapılması önerilmektedir (36). Bu hastalarda ayrıca gram-negatif bakterilerle olan enfeksiyonlara da yatkınlık artmıştır (37). Bununla birlikte bu hastalarda profilaktik antibiyotik ve immunglobulin tedavileri önerilmemektedir. Önerilen yaklaşım sepsisten erken şüphe

edilmesi ve gereken durumlarda acilen parenteral antibiyotik tedavisinin başlanmasıdır (6).

Nefrotik sendromlu çocuklarda karşılaşılabilen bir başka önemli problem de suçiçeği enfeksiyonudur. Nefrotik sendromlu hastaların önemli kısmı yaşları itibariyle suçiçeğine karşı bağışıklık kazanmamışlardır ve bu hastalarda suçiçeği enfeksiyonu veya teması özel yaklaşım gerektirmektedir. Suçiçeğine karşı bağışıklığı olmayan ve immünosupresif tedavi alan hastalara temas sonrası suçiçeği immünglobulini tedavisi önerilmektedir (1). Ayrıca böbrek hastalığı için steroid kullanan hastalarda temas sonrası immünglobulin ile birlikte asiklovir profilaksisinin suçiçeği enfeksiyonu gelişimini önlediği gösterilmiştir (38). Remisyon sağlandıktan sonra suçiçeği aşısının uygulanması güvenli ve etkin bir şekilde bağışıklık sağlamaktadır, fakat bazı hastalarda bağışıklık oluşturmak için ek doz aşı uygulamasının gerektiği gösterilmiştir (39).

2.6.2. Tromboembolik Komplikasyonlar

Nefrotik sendrom hastaları tromboembolik olaylar için risk altındadırlar ve hastaların %1-5'inde bu komplikasyonlar görülebilmektedir (40). Nefrotik sendrom hastalarında artmış tromboz riskinin patogenezinde artmış koagülasyon faktörü sentezi (faktör 2, 5, 7, 8, 9, 10, 13), idrar ile antitrombin-3 gibi antikoagülan proteinlerin kaybı, trombosit sayısında ve agregabilitesinde artış, hiperviskozite, hiperlipidemi, diüretik kullanımı, steroid kullanımı, immobilizasyon ve santral kateter varlığı rol oynamaktadır (1). Nefrotik sendrom hastalarında hem arteriyal hem de venöz trombüsler görülebilmektedir, sık görülen durumlar arasında renal ven trombozu, pulmoner emboli, sagittal sinüs trombozu ve santral kateter trombozu yer almaktadır. Bu hastalarda santral kateter kullanımından mümkün olduğunca kaçınılması önerilmektedir, fakat özellikle sık albumin infüzyonu ihtiyacı olan ve yaşları itibariyle uzun süreli venöz erişimin santral kateter gerektirdiği konjenital ve infantil nefrotik sendrom hastalarında bu yaklaşım her zaman mümkün olmamaktadır (1). Profilaktik antikoagülasyon nefrotik sendrom hastalarında önerilmemektedir, fakat gösterilmiş trombüs varlığında en az 6 ay varfarin ile antikoagülasyon yapılması önerilmektedir (41). Ciddi

trombositoz varlığında aspirin kullanılmasının düşünülmesi de önerilmektedir (1).

2.6.3. Kardiyovasküler Hastalık

Nefrotik sendrom hastalarında özellikle hastalık süresinin uzun olduğu durumlarda miyokard enfarktüsü gibi kardiyovasküler sekeller görülebilmektedir (42). Kardiyovasküler hastalık gelişiminden sorumlu tutulan faktörler: steroid maruziyeti, hiperlipidemi, oksidan hasar, hipertansiyon, hiperkoagülabilité ve anemidir (1). Nefrotik sendromlu çocukların birçoğunda böbrek hastalığı tedavi edilebilir olduğundan bu hastalarda hiperlipideminin tedavisi tartışmalıdır (43) ve bazı vaka serilerinde serum lipid düzeylerinde statinler ile düşüş sağlandığı gösterilmiştir (44). Medikal tedaviye yanıt vermeyen konjenital ve infantil nefrotik sendrom hastalarında hiperlipideminin tedavi edilmesine yönelik bir bilgi bulunmamaktadır.

2.6.4. Diğer Komplikasyonlar

Vitamin D bağlayıcı protein kaybına bağlı vitamin D eksikliği ve nadiren sekonder hiperparatiroidizm, artmış üriner protein atılımına bağlı hipotiroidizm, akut böbrek yetmezliği ve ilaç yan etkileri bu hastalarda görülebilecek diğer komplikasyonlardır (1).

2.7. Konjenital ve İnfantil Nefrotik Sendromun Genetiği

1 yaş altında nefrotik sendroma yol açan en sık genetik bozukluklar *NPHS1*, *NPHS2*, *WT1* ve *LAMB2* genlerinde görülmektedir (7). Bu genler ve ilişkili fenotiplerle ilgili detaylı bilgiler aşağıda anlatılmıştır.

2.7.1. *NPHS1* ve Nefrin

NPHS1 (nefrozis 1) geni tarafından kodlanan nefrin, aralık-diyaframı'nın esas bileşenlerinden biridir ve ayaksı çıkıntıları birbirine bağlar (45). Nefrin immünoglobulin ailesinden bir hücre adezyon molekülüdür ve özel olarak eksprese edildiği aralık diyaframının ilk tanımlanan proteindir. Nefrin molekülünün aralık diyaframının moleküler eleksi yapısının oluşumunda doğrudan rolü olduğu gösterilmiştir (46). Yapılan çalışmalarda nefrinin podosit işlevi, sağ kalımı ve farklılaşması ile ilgili sinyalizasyon

yolaklarında kritik roller oynadığı gösterilmiştir. Nefrinin intraselüler bölgesinin sinyal proteinleri ile yakın ilişkili olduğu ayrıca indirekt olarak hücre iskeleti ile de bağlantılı olduğu gösterilmiştir (47). *NPHS1* genindeki mutasyonların OR kalıtım gösteren ve konjenital nefrotik sendromun en sık görülen tipi olan Fin tipi nefrotik sendroma neden olduğu gösterilmiştir (48). Bu hastalık doğumda veya hayatın ilk günlerinde saptanabilen masif proteinüri, büyük plasenta, belirgin ödem ve proksimal tübüllerin tipik radyal dilatasyonu ile karakterizedir (2). Bu hastalar tipik olarak prematür olarak ve 1500 g- 3500 g arası doğum ağırlığı ile doğarlar ve hemen tüm vakalarda plasenta ağırlığı doğum ağırlığının %25'inden fazladır (6). Proteinüri in utero olarak mevcuttur ve doğumdan sonraki ilk idrar örneğinde saptanabilir. Ayrıca mikroskopik hematüri ve ilk aylarda normal serum kreatinin düzeylerinin olması tipiktir (6). Çoğu hastada 3-8 yaş civarında SDBH gelişir (49). Böbreklerde histolojik olarak glomerüler mezangiyumun ekspansiyonu ve proksimal tübüllerde dilatasyon en karakteristik bulgulardır. İnterstisyel fibrozis ve özellikle glomerüllerin etrafında inflamatuvar infiltratlar zamanla artan sıklıkta görülen histolojik bulgulardır. Elektron mikroskopisinde ise podosit ayakları çıkıntılarında düzleşme ve aralık-diyafrazmanın filamentöz görünümünün kaybolduğu görülür (6,22). Fin Tipi Nefrotik Sendrom'un Finlandiya'da görülme sıklığı 8200 canlı doğumda birdir (50) ve yayınlanan tüm vakaların yaklaşık yarısı Finlandiya'lıdır, fakat yapılan çalışmalarda bu hastalığın tüm toplumlarda görüldüğü gösterilmiştir (6,49). Fin toplumunda en sık görülen mutasyonlar Fin-major (p.Leu41AspfsTer50) ve Fin-minor (p.Arg1109Ter) mutasyonlarıdır ve Fin toplumundaki mutant allellerin sırasıyla %78 ve %16'sını oluşturmaktadır (48). Fin-major ve Fin-minor mutasyonları diğer etnik gruplarda nadiren görülmektedir ve bu toplumlarda konjenital nefrotik sendrom fenotipi olan hastalarda *NPHS1* geninde mutasyon saptama oranı %66'ya kadar çıkmaktadır (51). Bugüne kadar *NPHS1* geninde 140'tan fazla mutasyon tanımlanmıştır (2). *NPHS1*'de görülen her mutasyon ağır konjenital nefrotik sendroma neden olmamaktadır. Örneğin p.(Arg1160Ter) mutasyonuna homozigot olarak sahip olan hastaların yaklaşık yarısında yaşamın ilk 3 ayında nefrotik sendrom görülürken hastalığın seyri görece

benign olup, çocukluk çağında sık ve spontan kısmi veya tam remisyon gözlenebilmektedir. Bu klinik değişkenliğin özellikle cinsiyet tarafından etkilendiği ve iyi prognoz gözlenen hastaların çoğunun kadın olduğu görülmüştür (52). Dünya genelinde hayatın ilk günlerinde ağır proteinüri görülen hastalarının yer aldığı geniş bir konjenital nefrotik sendrom kohortunda hastaların yarısından fazlasında *NPHS1* mutasyonları gösterilmiştir (2). İnfantil ve çocukluk çağı nefrotik sendrom hastalarında da *NPHS1* mutasyonları gösterilmiştir. Yapılan iki çalışmada 3 aydan sonra başlangıç gösteren çocuk ve erişkin SDNS hastalarının %7-14'ünde *NPHS1* mutasyonları gösterilmiştir (53,54). *NPHS1* konjenital nefrotik sendrom hastalarında tanımlanan esas gen olsa da başka genlerdeki (*NPHS2* gibi) mutasyonların da konjenital nefrotik sendroma neden olabildiği bilinmektedir.

2.7.2 *NPHS2* ve Podosin

NPHS2 (nefrozis 2) geninin kodladığı podosin stomatin ailesi üyesi bir proteindir ve aralık diyaframın podositlere yapışma bölgesinde yer alır. Son yapılan çalışmalarda podosinin sıkı-bağlantı proteinlerinin aktin hücre iskeletine bağlanması için bir iskele görevi gördüğüne dair kanıtlar elde edilmiştir (55). Ayrıca podosinin aralık-diyaframındaki mekanosenasyonda da rol aldığına dair veriler elde edilmiştir (56). Yapılan çalışmalarda nefrin ve podosin proteinlerinin birçok farklı şekilde etkileştiği gösterilmiştir. Podosin nefrin sinyalizasyonunu kolaylaştırmakta (57) ve nefrin fosforilizasyonu da nefrin-podosin bağlanmasını artırmaktadır (58). Ayrıca podosinin özelleşmiş plazma membran lipidleri ile birlikteliğinin nefrinin plazma membranına yerleştirilmesi için bir ön koşul olduğu düşünülmektedir (59). *NPHS2* mutasyonu olan hastalarda histolojik olarak minimal glomerüler değişiklikler (erken dönemde yapılan biyopsilerde) veya FSGS gözlenmektedir (2). Yapılan çalışmalarda podosinin sentezlendikten sonra plazma membranına yerleştiği ve mutant podosinlerin bu yerleşimi yapamayarak hücre içinde kaldığı gözlenmiştir (59). Ayrıca mutant podosinlerin varlığında nefrinin de plazma membranına yerleştirilmesinde bozukluk olduğu görülmüştür (59). *NPHS2* mutasyonlarının ilk olarak erken başlangıçlı OR SDNS'ye neden olduğu gösterilmiştir (60). *NPHS2* mutasyonlarına bağlı olarak gelişen

nefrotik sendromda hastalık derecesi çok değişkendir ve konjenital nefrotik sendroma neden olabileceği gibi, çocukluk çağında, hatta erişkin dönemde başlangıç gösteren nefrotik sendrom vakaları da bildirilmiştir (7,49,61). *NPHS2* mutasyonları ailesel SDNS'lerin genel olarak %40'ından sorumludur ve bu mutasyonların tanınması hekimlerin gereksiz immünosupresif tedaviden sakınmalarını veya immünosupresif tedavi başlanmış hastalarda tedavinin kesilmesini sağlamaktadır. Böylece bu hastaların immünosupresiflerin yan etkilerinden korunması sağlanabilmektedir (2,62). İnfantil nefrotik sendrom vakalarının çok büyük kısmından *NPHS2* mutasyonlarının sorumlu olduğu gösterilmiştir (60). Orta Avrupalı konjenital ve infantil nefrotik sendrom hastalarında tüm mutasyonların yaklaşık yarısının *NPHS2*'de saptandığı gösterilmiştir (7). Günümüze kadar *NPHS2* geninde 100'den fazla mutasyon tanımlanmıştır (2).

2.7.3 *WT1* ve İlişkili Bozukluklar

WT1 (Wilms Tümör 1) bir tümör supresör gendir ve transkripsiyon faktörü olan *WT1*'i kodlar ve bu transkripsiyon faktörü böbreğin ve genital organların embriyonel gelişiminde önemli rol oynar. Podositlerde yoğun olarak eksprese edilen *WT1*, nefrin ekspresyonunun düzenlenmesinde de rol alır (6). *WT1*'in *NPHS1* promoter'ini transkripsiyonel olarak aktive ettiği ve nefrin mRNA miktarını artırdığı gösterilmiştir(63). *WT1* ilk olarak Wilms tümörü, Denys-Drash sendromu ve Frasier sendromuna neden olan gen olarak tanımlanmıştır (64). Denys-Drash sendromu 46,XY karyotipli hastalarda Wilms tümörü, XY psödohermafroditizm ve progresif glomerülopati triadı ile seyrederken 46, XX karyotipli hastalarda Wilms tümörü ve progresif glomerülopati ile seyrederek (65). Denys-Drash sendromunda görülen mutasyonların %95'inin *WT1*'in 8. ve 9. ekzonlarında bulunduğu gösterilmiştir (66). Frasier sendromu ise 46, XY karyotipli hastalarda XY gonadal disgenezi, nefrotik sendrom ve gonadoblastom ile seyrederken 46, XX karyotipli hastalarda izole nefropati ile karakterizedir (65). Frasier sendromunun *WT1*'in 9. ekzonundaki spesifik splice mutasyonları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (67). Yapılan bir çalışmada *WT1* geninin 8. ve 9. ekzonlarındaki mutasyonların izole SDNS'ye de neden

olduğu gösterilmiştir (68). Yapılan çalışmalarda *WT1*'in 10 ekzonunun herhangi birinde görülen mutasyonların Wilms tümörü gelişimi ile ilişkisi gösterilmiş (69) fakat *WT1*'in tüm ekzonlarının nefrotik sendrom hastalarında sekanslandığı bir çalışmada sadece 8. ve 9. ekzonlarında görülen mutasyonların nefrotik sendroma neden olduğu gösterilmiştir (64). *WT1* mutasyonu bulunan vakalarda en sık görülen renal histolojik bulgu DMS'dir (6).

2.7.4 *LAMB2* ve Pierson Sendromu

LAMB2 (Laminin beta 2) geni laminin- $\beta 2$ izoformunu kodlar ve bu genin mutasyonları ilk olarak erken başlangıçlı nefrotik sendrom ve değişken oküler bulgularla seyreden Pierson Sendromu'nda (konjenital nefroz-mikrokori sendromu) tanımlanmıştır. Bu hastalıktaki en karakteristik göz bulgusu mikrokoridir ve pupil dilatasyonundaki bir yapısal defekten kaynaklanmaktadır (70). *LAMB2* mutasyonları insanlarda GBM'nin genetik bozukluklarının nefrotik sendroma neden olabileceğini gösteren ilk açık kanıt olarak tanımlanmıştır (6). GBM'nin önemli bir bileşeni olan laminin - $\beta 2$ GBM'nin podositlerin ayaksı çıkıntılarına kenetlenmesinde önemli rol oynar (6). Laminin- $\beta 2$ içeren laminin izoformları GBM dışında intraoküler kaslarda da eksprese edilmektedir ve bu ekspresyon paterni Pierson sendromu hastalarında görülen klinik bulgularla örtüşmektedir (70). Yapılan çalışmalarda *LAMB2* ilişkili bozuklukların spektrumunun düşünülenenden daha geniş olduğuna dair bulgular elde edilmiş ve *LAMB2* genindeki mutasyonların göz bulgularının görülmediği veya çok hafif olduğu hastalarda da konjenital nefrotik sendroma neden olduğu gösterilmiştir (71).

Türk kökenli 23 hastayı da içeren toplam 80 Avrupa kökenli 1 yaş altı nefrotik sendrom hastasında yapılan bir çalışmada bahsedilen 4 genin (*NPHS1*, *NPHS2*, *WT1*, *LAMB2*) sekanslanması sonucunda hastaların 53'ünde (%66) bu dört genden birinde nefrotik sendroma neden olacak mutasyonların bulunduğu ve en sık mutasyonların *NPHS2* 'de (%38) görülürken bunu sırasıyla *NPHS1* (%22), *WT1* (%4) ve *LAMB2* (%2) genlerindeki mutasyonların izlediği görülmüştür. Türk kökenli hastalara bakıldığında ise bu dört genden birinde mutasyon saptama oranının daha

düşük (10/23, %43) olduğu görülmüş ve Türk kökenli hastalarda mutasyon bulunan gen sıklığı şu şekilde sıralanmıştır: *NPHS1* (%26), *NPHS2* (%13), *LAMB2* (%4). Türk kökenli hiçbir hastada *WT1* geninde mutasyon saptanmamıştır (7). Bu bilgiler Türk toplumundaki 1 yaş altındaki nefrotik sendroma neden olan genlerin sıklığının Avrupa toplumlarından çok farklı olduğunu göstermektedir. Ayrıca bahsedilen çalışmada toplam 23 Türk kökenli hasta incelenmiş olup bu sayı Türk toplumundaki 1 yaş altında görülen nefrotik sendroma neden olan genlerin gerçek sıklığını belirlemek için yetersizdir. Nefrotik sendrom hastalarında genetik analiz aşamasında karşılaşılan bir problem de sorumlu genlerin *WT1* haricinde (sadece 8. ve 9. ekzonlar) görece büyük olmasıdır (*NPHS1* - 29 ekzon, *NPHS2* - 8 ekzon, *LAMB2* - 32 ekzon). Bu durum yapılacak sekanslama işlemlerini zaman ve maliyet açısından zorlaştırmaktadır. Bu nedenle her toplumda sık mutasyon saptanan genlerin öncelikli olarak çalışılması maliyet ve zaman açısından tasarruf sağlayacaktır.

2.8. Amaç

Bu çalışmanın amacı Türk toplumunda 1 yaş altında görülen nefrotik sendroma neden olan genlerin sıklığını, mutasyonları ve genetik bozukluklarla hastaların klinik bulguları ve hastalık seyri arasındaki ilişkiyi geniş bir örnekleme incelemektir. Bu çalışmadan elde edilecek bilgilerle Türk toplumundaki hastalarda genetik analizler yapılırken öncelik verilmesi gereken genler ve mutasyonlar belirlenebilecek, ayrıca hastaların prognozlarının da daha sağlıklı olarak değerlendirilmesi sağlanacaktır.

3. YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Hacettepe Üniversitesi Pediatrik Nefroloji Bilim dalı 2009-2012 yılları arasında bir Avrupa Birliği E-RARE projesi olan “PodoNet: Podositin Kalıtsal Hastalıklarında Klinik, Genetik ve Deneysel Araştırma Konsorsiyumu”nun (<http://www.podonet.org/>) bir ortağı olarak yer almıştır. Bu bağlamda Hacettepe Üniversitesi Etik Kurulu’nun TBK08/1-57 nolu onayı ile Hacettepe Üniversitesi Pediatrik Nefroloji Laboratuvarı’nda nefrotik sendrom tanılı hastalara ait bir veri ve DNA bankası oluşturulmuştur. Bu bankaya Hacettepe Üniversitesi Pediatrik Nefroloji Bilim Dalı yanı sıra Türkiye’nin diğer nefroloji merkezlerinden de hasta bilgileri ve genetik materyalleri gönderilmiştir. Bunların yanı sıra Suriye, İran ve bazı Balkan ülkelerinden de laboratuvarımıza genetik çalışmaların yapılması amacıyla nefrotik sendrom tanılı hasta klinik bilgi ve genetik materyali gelmiştir. Nefrotik sendrom tanısı tüm hastalara pediatrik nefroloji uzmanları tarafından klinik ve laboratuvar bulgularına göre konulmuştur. Laboratuvara genetik materyallerin kabulü standart klinik bilgi formları (Ek-1) ve bilgilendirilmiş onam formları eşliğinde gerçekleştirilmiştir. Böylelikle nefrotik sendromlu hastalara ait çok geniş bir veri ve DNA bankası oluşturulmuş ve bu hastalarda bilinen nefrozis genlerine ait mutasyon taramaları gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada mevcut veri bankası ve standart klinik bilgi formları kullanılarak 1 yaş altında tanı almış nefrotik sendromlu hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Bu hastalar hastalık başlangıç yaşına göre konjenital (0-3 ay) ve infantil (4 ay-1 yaş) nefrotik sendrom olarak tanımlandı ve hastalar klinik bulgular, uygulanan tedaviler, hastalığın seyri, diyaliz ve renal transplantasyon uygulanma yaşı, sağkalım oranı ve genetik bozukluklar açısından değerlendirildi. Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (GO 13/46-28). Hastaların klinik bilgileri kan örneklerinin laboratuvara kabulü sırasında gönderilen standart klinik bilgi formlarından elde edilmiştir. Hastaların sağkalımı ve son durumları ile ilgili bilgiler anne veya baba ile telefon görüşmesi yapılarak öğrenilmiştir. Tüm hastalara *NPHS1*,

NPHS2 ve *LAMB2* genlerinin tüm ekzonları, *WT1* geninin ise 8. ve 9. ekzonları için DNA dizi analizi yapılmıştır.

3.2. Genetik Çalışmalar

Çalışmaya dahil edilen hastalardan alınan 10 ml EDTA'lı tüp içindeki kan örnekleri Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Nefroloji Laboratuvarı'na hastaların doktorları tarafından klinik bilgi formu ve bilgilendirilmiş onam formu ile gönderilmişti. Pediatrik Nefroloji Laboratuvarı'nda bu kanlardan fenol-kloroform yöntemi ile DNA izolasyonu yapılmış ve DNA örnekleri 50 ng/ml konsantrasyonunda seyreltilerek polimeraz zincir reaksiyonlarında (PCR) taslak olarak kullanılmıştır.

NPHS1, *NPHS2* ve *LAMB2* genlerinin tüm ekzonları ile *WT1* geninin 8. ve 9. ekzonları için özgül "forward" ve "reverse" primerler kullanılarak PCR reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Kullanılan primerlerin dizileri Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1: Polimeraz zincir reaksiyonu için kullanılan primerler.

Gen/Ekzon	Baz Dizisi	Gen/Ekzon	Baz Dizisi
NPHS1_E1/2F	GAGAGGGACCCAGAGAAAGC	NPHS1_E11F	CAGGACCCAGCACAGAGAA
NPHS1_E1/2R	CGACCTGGCACTCATACTCC	NPHS1_E11R	GTCCTTCCCCCACATTCT
NPHS1_E3/4F	AGGGGACCCTGCTAGAGGTA	NPHS1_E12F	ACCCAGTGGGCAGGGTAG
NPHS1_E3/4R	AACACACACCCTTCCCCTC	NPHS1_E12R	GTTGGAGGAGCGAGACTCAG
NPHS1_E5F	ATTCAGGCAGTCCAGAAAGT	NPHS1_E13F	GGAGGGACAGAGCCAGGT
NPHS1_E5R	CCATGAAGAAGCTTTGAGAGT	NPHS1_E13R	CAGAGGCTGGAGAGGCACTA
NPHS1_E6F	TGACTCCCCAAATTCAGATG	NPHS1_E14F	TAGTGCCTCTCCAGCCTCTG
NPHS1_E6R	TTCCATAATCCCTGTGATCC	NPHS1_E14R	TTAGGGTCAAGAAGGCATCG
NPHS1_E7F	GAGTGGATGGGCTACTCCAG	NPHS1_E15/16F	TGTGCCTGATCTCCAATCTG
NPHS1_E7R	TCAGGACTGGCTCCCAGA	NPHS1_E15/16R	GAGACTCCACAATGGGCAAG
NPHS1_E8F	GGTCTGGGAGCCAGTCCT	NPHS1_E17F	GTCTGGGCCCAAGTGTCTT
NPHS1_E8R	GGCACACACAGATGGTTCTC	NPHS1_E17R	TCCAAGGAACTCACAGTCA
NPHS1_E9F	GCTTAGTGTCTTCCTTCTCTGTCC	NPHS1_E18/19F	ATTTGGGCAGTGATGGATCT
NPHS1_E9R	ACGAGTCATGCCCTCAGC	NPHS1_E18/19R	CTTCTCTGCAGGGACTCAGG
NPHS1_E10F	CGATGGATAGGGGTGCTG	NPHS1_E20F	TGGATGCATAGATGATTCCAAG
NPHS1_E10R	TCTGTGCTGGGTCTGAG	NPHS1_E20R	CAATCAGGGATGTGGGAATG

Tablo 3.1 (devam): Polimeraz zincir reaksiyonu için kullanılan primerler.

Gen/Ekzon	Baz Dizisi	Gen/Ekzon	Baz Dizisi
NPHS1_E21/22F	CCTGGACAGAATCTTCTGGAAT	NPHS2_E3R	TTACTTCATTTAATCTGAGGTCAT
NPHS1_E21/22R	TTCACCATACTACCCTACACATCC	NPHS2_E4F	TGACCCCAGAAAGGT
NPHS1_E23F	GGCTTAAGAAGAGGCTGAGAAA	NPHS2_E4R	AAGCAAAAGCCATCA
NPHS1_E23R	AGGGTCAGAGACCAGGAGGT	NPHS2_E5F	GCGGAGAAAATTCACITTTGA
NPHS1_E24/25F	ACAGCCTGTTGTCTGGGATT	NPHS2_E5R	GGATGGAAGTGGCCATAGAA
NPHS1_E24/25R	CCTCCCTCAGAGCCTTCTTT	NPHS2_E6F	ACAGATTCCAGGGATTAGGACA
NPHS1_E26F	AGGTTTGGGGGAGACTGGT	NPHS2_E6R	TGAAAAATTTAAAATGAAACCAGAA
NPHS1_E26R	CTAACGGCAGGGCTTCAGTC	NPHS2_E7F	TGACCTCAGAAGTCTAGGAAT
NPHS1_E27/28F	GCCGTTAGCATCAGGTTGA	NPHS2_E7R	TGCCTAATGAATGGACAGTAA
NPHS1_E27/28R	CAGGCCTCTTTGTTACAGCA	NPHS2_E8F	GATGCTCAGTGCTTGTCTGC
NPHS1_E29F	TTAAGCAGGGGCATGTATCC	NPHS2_E8R	CCATATGGCAACCAAAGGAA
NPHS1_E29R	GCCCAGGCTGTAATGAGAGA	WT1_E8F	CTAACAAGCTCCAGCGAA
NPHS2_E1R	TCAGTGGGTCTCGTGGGGAT	WT1_E8R	ACTAAACACATGGCTGACTC
NPHS2_E1F	CRACTCCACAGGGACTGC	WT1_E9F	CCTCACTGTGCCACATTGT
NPHS2_E2F	TGCCAACTCCAATACCAAGA	WT1_E9R	GCACTATTCCTTCTCTCAACTGAG
NPHS2_E2R	CAGTGAGAGGCCTCAGGAAA	LAMB2_E1F	GAGGGAAGGGGTAGGGTTG
NPHS2_E3F	TTTCCTGGTTCTCAA	LAMB2_E1R	CTATCCAGTGGCTCCACCTC

Tablo 3.1 (devam): Polimeraz zincir reaksiyonu için kullanılan primerler.

Gen/Ekzon	Baz Dizisi	Gen/Ekzon	Baz Dizisi
LAMB2_E2F	GTCCTGGTAGTTGCCCTTGG	LAMB2_E16R	ACCCCTGCTATCCCTCAAGT
LAMB2_E2R	CTTCTTTTCGTCCTGGGTTG	LAMB2_E17/18F	AGTGCTCTGGCAATGCCTAC
LAMB2_E3/4F	CTGGGGACAGGGTGTGAC	LAMB2_E17/18R	AGCAGGTCCAGAAGGAGGAG
LAMB2_E3/4R	CATGCTCAAGGAGGCTGTG	LAMB2_E19F	TCCTGACCTTCCCACCTAGA
LAMB2_E5/6F	CTGAGCAGGGCTCTTGATG	LAMB2_E19R	CCAACCAACCCACTCATAGC
LAMB2_E5/6R	CACCTGCCCTAGGAAGCAC	LAMB2_E20/21F	AGCAGCTATGAGTGGGTTGG
LAMB2_E7/8F	GGGTGGCAGTGTATAGGAGGT	LAMB2_E20/21R	TGAGCACAGTAGTCAAGAGGAG
LAMB2_E7/8R	CTATGGAGGCCAAGATCTCACT	LAMB2_E22/23F	GAGGGCATGGCTGAATTG
LAMB2_E9F	CCACAAATTCTGGCCTGTG	LAMB2_E22/23R	TGCAAGAAAGAGCAGAGCAC
LAMB2_E9R	TCTATCCCAAGCCCCTAACC	LAMB2_E24F	GCCAGGGTAGATGGAGGAC
LAMB2_E10/11F	AGGAGAGGACTGGCAGTGAG	LAMB2_E24R	GGGTGTTTAGAGAGGCTTCAG
LAMB2_E10/11R	CACCCACTGGCATAGATGTG	LAMB2_E25F	GCGGAAGGGCCTAAGAATAC
LAMB2_E12/13R	ACATCCAGCCCTCTGCTTAG	LAMB2_E25R	TAAATTGGGCAGAGGCAGAC
LAMB2_E12/13F	GGTCTGGAGGTCTGTTTCTGG	LAMB2_E26F	TCCTGGGTGAGTTGTTAGCC
LAMB2_E14/15F	CAGGAGAAATGGGGTTTGG	LAMB2_E26R	CCAGGCACAGAACAAGTCAG
LAMB2_E14/15R	GAATGAGCTGTGGGGTCTTC	LAMB2_E27F	TGGTGAGGTTGAAGTGTTGG
LAMB2_E16F	GGAGGCCCAGATGATTTGTA	LAMB2_E27R	GAGGCTCAAGTATGAACCAAGG

Tablo 3.1 (devam): Polimeraz zincir reaksiyonu için kullanılan primerler.

Gen/Ekzon	Baz Dizisi	Gen/Ekzon	Baz Dizisi
LAMB2_E28/29F	CCTGAGTCCATACCCCAAAA	LAMB2_E30/31R	GTTTCCCGCAGTCTTGTGTC
LAMB2_E28/29R	CCTTGTCCCCTGATGTCCT	LAMB2_E32F	TAAGAAATGGGGCACCAGAG
LAMB2_E30/31F	CTGTGTAACCTTTGGCTCACC	LAMB2_E32R	CCCAAATCAGAGTCCAGACAA

PCR için kullanılan karışım:		PCR programı:		
5X Tampon	5 ul	95 °C	5 dakika	
dNTP	0.5 ul	95 °C	45 sn	} 34 döngü
MgCl (25 mM)	1.5 ul	58 °C	35 sn	
Primer F (10 pmol)	1 ul	72 °C	45sn	
Primer R (10 pmol)	1 ul	72 °C	3 dakika	
Taq polimeraz	0.25 ul	4 °C	∞	
DNA (10-50 ng/ul)	2 ul			
Su	9 ul			

Jel üzerinde tek bant şeklinde görüntülenen ürünler vakum pürifikasyon (Qiagen Minielute) ile saflaştırılarak nanodrop ile konsantrasyon ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Daha sonra bu ürünlere aşağıda belirtilen protokole göre dizi analizi yöntemi uygulanmıştır.

DNA dizileme reaksiyonu için

kullanılan karışım:		PCR programı:		
Big Dye	0.5 ul	96 °C	1 dakika	
5X Tampon	1.75 ul	96 °C	10 sn	} 30 döngü
Primer (F ya da R)	1 ul	50 °C	5 sn	
Su	4.75 ul	60 °C	4 dakika	
Pürifiye PCR ürünü	2 ul	4 °C	∞	

DNA dizi analizi reaksiyonu sonucunda elde edilen ürünler sefadeks kolonlardan geçirilerek pürifiye edilmiş ve genetik analiz cihazında (Applied Genetic Analyzer 3130) koşumları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ham veriler Sequencing Analysis Software ile analiz edilmiş ve Ensembl veri tabanındaki referans diziyle (<http://www.ensembl.org/>) karşılaştırılarak normalden farklı varyasyon, polimorfizm ve mutasyonlar açısından taranmıştır. Ensembl'da karşılaştırma yapılan referans diziler şöyledir: NPHS1 transcript ID ENST00000378910, NPHS2 transcript ID ENST00000367615, LAMB2 transcript ID ENST00000305544. *WT1* geninin birçok farklı transkripti olması ve literatürdeki mutasyon adlandırması çoğunlukla daha önceki bir çalışmaya göre yapılmış olduğundan aynı çalışma (72) referans alınarak isimlendirme yapılmıştır. Bu yolla varyasyon saptanan bireylerde segregasyonu göstermek amacıyla ebeveynlere de bakılmıştır. Saptanan tüm varyasyonların Human Gene Mutation Database Professional'da (<http://www.hgmd.org/>) daha önceden tanımlanıp tanımlanmadığı araştırıldı (erişim tarihi: Ağustos 2014). Daha önceden hastalığa neden olduğu bildirilmiş değişiklikler ilgili makaleler referans alınarak mutasyon kabul edilmiştir. Daha önce tanımlanmamış olan genetik değişiklikler Mutation Taster adlı tahmin programı (<http://www.mutationtaster.org/>) kullanılarak türler arası evrimsel korunma ve aminoasit değişikliğinin proteinin yapısına etkisini içeren bir algoritmaya göre hastalığa neden olma olasılığı açısından incelenmiştir. Mutation Taster incelemesi sonucunda hastalığa neden olduğu tahmin edilen genetik değişiklikler mutasyon olarak adlandırılmıştır.

3.3. İstatistiksel Analiz

Mutasyon saptanan genlere göre hastalar gruplandırıldı ve tüm grupların klinik verileri ortalama±ortalamanın standart hatası olarak sunuldu. Tüm gruplarda hastalık başlangıç yaşı ve sağkalım incelemesi için Kaplan-Meier eğrileri çizildi. Bu eğriler Log-rank testi kullanılarak karşılaştırıldı ve $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

4. SONUÇLAR

4.1. Genel Sonuçlar ve Demografik Özellikler

Pediyatrik Nefroloji Laboratuvarı'na standart klinik bilgi formu doldurularak tam kan örneği gönderilen 1 yaş altında başlangıç gösteren nefrotik sendromu olan 102 hasta çalışmaya dahil edildi. Bu hastaların 92'si Türkiye'den, diğerleri ise Suriye (4 hasta), İran (3 hasta), Sırbistan (2 hasta) ve Bosna-Hersek'ten yönlendirilmişti (1 hasta). Hastaların 55'i erkek (%54), 47'si kızdı (%46). Çalışmaya dahil edilen hastaların 80'i (%78) konjenital nefrotik sendrom, 22'si (%22) infantil nefrotik sendrom hastasıydı. Genetik çalışmalar sonucunda 66 hastada incelenen dört genden birisinde (38 hastada *NPHS1*, 16 hastada *NPHS2*, 8 hastada *WT1* ve 4 hastada *LAMB2*) hastalığa neden olan mutasyonlar saptandı. 36 hastada ise *NPHS1*, *NPHS2*, *WT1* ve *LAMB2* genlerinde hastalığa neden olabilecek mutasyonlar saptanmadı. Mutasyon saptanan hastaların %88'i konjenital nefrotik sendrom tanısı almıştı. Konjenital nefrotik sendrom hastalarında bu 4 genden birinde mutasyon saptama oranı %73 iken, infantil nefrotik sendrom hastalarında ise mutasyon saptama oranı %36'ydı.

NPHS2 mutasyonu saptanan hastaların çoğu erkek iken (%63), *NPHS1* ve *LAMB2* mutasyonu saptanan hastaların çoğunluğu kızdı (sırasıyla %58 ve %75), *WT1* mutasyonu olan hastalarda ise erkek ve kız oranı eşitti. Mutasyon saptanamayan hastaların çoğunluğu erkekti (%67). Anne-baba arasında akrabalık oranı en yüksek olan grup %100 ile *LAMB2* grubuydu, bunu %81 ile *NPHS1*, %69 ile *NPHS2*, %50 ile *WT1* grupları izlemekteydi. Mutasyon saptanmayan hastalarda anne-baba arasında akrabalık oranı %47'ydi. Hastaların demografik özellikleri Tablo 4.1'de verilmiştir.

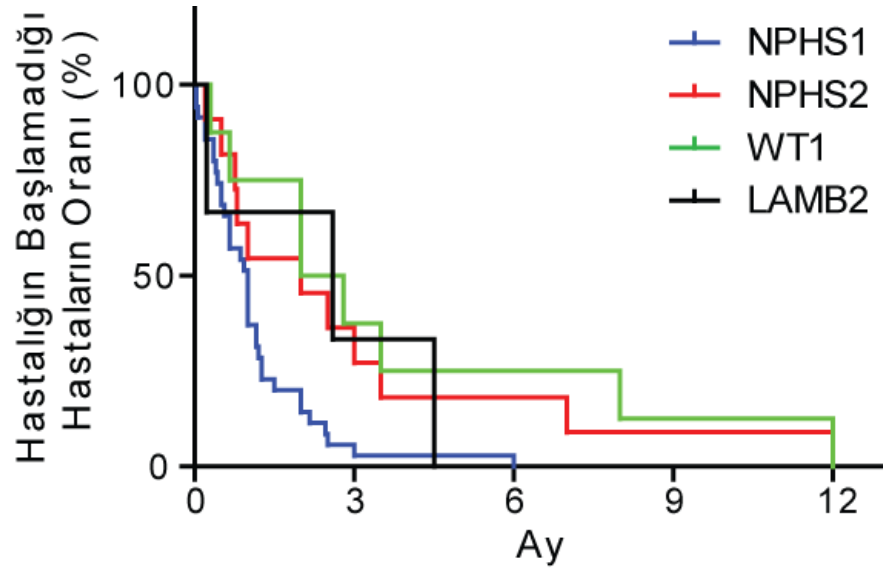
Tablo 4.1. Hastaların başlangıçtaki demografik, klinik ve laboratuvar bulguları. Veriler ortalama±ortalamanın standart hatası olarak verilmiştir. NS: nefrotik sendrom.

	NPHS1	NPHS2	WT1	LAMB2	Mutasyon yok
Hasta Sayısı	38	16	8	4	36
Cinsiyet (E/K)	16/22 (%42/58)	10/6 (%63/37)	4/4 (%50/50)	1/3 (%25/75)	24/12 (%67/33)
Anne-baba arasında akrabalık	%81	%69	%50	%100	%47
Başlangıç Yaşı (ay)	1.1±0.1	2.6±0.8	3.9±1.4	2.4±1.0	5.1±0.6
Konjenital/İnfanıl NS (%/%)	37/1 (%97/%3)	13/3 (%81/%19)	5/3 (%63/%37)	3/1 (%75/%25)	22/14 (%61/%39)
Ödem	%89	%56	%75	%75	%78
İzole proteinüri	%5	%25	%13	-	%14
Ortanca proteinüri	3+	3+	3+	4+	3+
Mikroskopik hematüri (%)	%60	%60	-	%25	%34
Serum kreatinin (mg/dL)	0.35±0.7	0.41±0.1	2.14±0.4	2.04±0.9	0.95±0.3
Serum protein (g/dL)	2.87±0.1	4.47±0.2	3.46±0.4	2.73±0.2	3.39±0.1
Serum albumin (g/dL)	1.18±0.1	2.02±0.2	1.93±0.2	1.37±0.1	1.22±0.1

4.2. Mutasyon Saptanan Genlere Göre Hastaların Özellikleri

Ortalama hastalık başlangıç yaşı en küçük olan grup NPHS1 (1.1 ay) grubuydu, bunu sırasıyla LAMB2 (2.4 ay), NPHS2 (2.6 ay) ve WT1 (3.9 ay) grupları izliyordu. NPHS1 grubunda 1 hasta hariç tüm hastalarda hastalık hayatın ilk 3 ayında başlamıştı. Gruplara göre hastalık başlangıç yaşı eğrileri Şekil 4.1'de verilmiştir. Mutasyon saptanan gene göre hastalık başlangıç yaşı NPHS1 grubunda NPHS2 (Log-rank testi, $p=0.01$) ve WT1 ($p=0.006$) gruplarına göre anlamlı olarak düşüktü, LAMB2 grubundan ise farksızdı ($p>0.05$). Diğer gruplar arasında hastalık başlangıç yaşı açısından anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). Mutasyon saptanmayan grupta ortalama hastalık başlangıcı 5.1 aydı. Gruplar içerisinde konjenital ve infantil nefrotik sendrom hastalarının dağılımına bakıldığında tüm gruplarda hastaların çoğunluğunun konjenital nefrotik sendromlu olduğu saptandı. Konjenital nefrotik sendrom oranı en yüksek NPHS1 grubundaydı (%97), bunu sırasıyla NPHS2 (%81), LAMB2 (%75) ve WT1 (%63) grupları izliyordu. Mutasyon saptanmayan grupta ise %61 oranında konjenital nefrotik sendrom hastası vardı. Hastaların hastalık başlangıç yaşları ile ilgili bilgiler Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tüm gruplarda en sık ilk başvuru şikayeti ödemdi. Ödem ile başvuran hasta oranı en yüksek NPHS1 grubundaydı (%89), bunu sırasıyla LAMB2 (%75), WT1 (%75) ve NPHS2 (%56), grupları izliyordu. Mutasyon saptanmayan gruptaki hastaların %78'i ödem ile başvurmuştu. Ödem olmadan rutin muayene sırasında proteinüri saptanarak nefrotik sendrom tanısı alan hasta oranı en yüksek NPHS2 grubundaydı (%25), bunu WT1 (%13) ve NPHS1 (%5) grupları izliyordu, LAMB2 grubunda ödem olmadan rutin muayene sırasında proteinüri saptanması sonrası tanı alan hasta yoktu. Mutasyon saptanmayan grupta hastaların %14'ü ödem olmadan rutin muayene sırasında proteinüri saptanması sonrası nefrotik sendrom tanısı almıştı. NPHS1 grubunda bir hasta konjenital nefrotik sendromlu kardeş öyküsü nedeniyle araştırılırken, NPHS2 grubunda ise bir hasta konvülsiyon nedeniyle araştırılırken tanı almıştı. Hastaların ilk başvuru şikayetleri ile ilgili bilgiler Tablo 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1: Mutasyon saptanan genlere göre hastalık başlangıç yaşı. (Log-rank testi. NPHS1 vs NPHS2 $p=0.01$, NPHS1 vs WT1 $p=0.006$, diğer gruplar arasında anlamlı fark yok, $p>0.05$)

LAMB2 grubunda spot idrarda dipstik ile bakılan ortanca proteinüri 4+, diğer gruplarda ise 3+'di. Mikroskopik hematüri oranı NPHS1 ve NPHS2 gruplarında %60 iken, LAMB2 grubunda %25, mutasyon saptanmayan grupta %34'tü. WT1 grubundaki hiçbir hastada mikroskopik hematüri saptanmamıştı. Başvurudaki ortalama serum kreatinin düzeyi en düşük NPHS1 grubundaydı (0.35 mg/dL), bunu sırasıyla NPHS2 (0.41 mg/dL), LAMB2 (2.04 mg/dL) ve WT1 grupları (2.14 mg/dL) izliyordu. Mutasyon saptanmayan grupta başvurudaki ortalama serum kreatinin düzeyi 0.95 mg/dL'ydı. Gruplardaki başvurudaki ortalama serum protein/albumin düzeyleri şu şekildeydi: NPHS1 (2.87/1.18 g/dL), NPHS2 (4.47/2.02 g/dL), WT1 (3.46/1.93 g/dL), LAMB2 (2.72/1.37 g/dL), mutasyon saptanmayan grup (3.39/1.22 g/dL). Hastaların idrar ve serum biyokimyası bulguları Tablo 4.1'de verilmiştir.

4.3 Hastalarda Saptanan Böbrek Dışı Bulgular

Mutasyon saptanan tüm gruplara bir arada bakıldığında böbrek dışı bulgular hastaların %41'inde mevcuttu ve en sık görülen bozukluk hastaların %14'ünde görülen konjenital kalp hastalıklarıydı (atriyal septal defekt ve pulmoner stenoz gibi). Böbrek dışı bulgular en sık LAMB2 grubunda mevcuttu ve tüm hastalarda göz anomalileri (mikrokori, miyozis) mevcuttu. NPHS1 grubunda %33 oranında böbrek dışı bulgular mevcuttu ve bunlar sıklık sırasına göre konjenital kalp hastalığı (%13), hipotiroidi (%5), boy kısalığı (%5), prematürite (%5) ve fasiyal dismorfizmdi (%5). NPHS2 grubunda %31 oranında böbrek dışı bulgular vardı ve bunlar sıklık sırasına göre konjenital kalp hastalığı (%13), hipotiroidi (%6), prematürite (%6), konvülziyon (%6) ve mental retardasyondur (%6). WT1 grubunda hastaların %50'sinde böbrek dışı bulgular vardı ve bunlar sıklık sırasına göre konjenital kalp hastalığı (%25), genital anomaliler (%25), konvülziyon (%13) ve hipotiroidiydi (%13). Mutasyon saptanmayan grupta hastaların %35'inde böbrek dışı bulgular vardı ve bunlar sıklık sırasına göre konjenital kalp hastalığı (%8), fasiyal dismorfizm (%8), sağırılık (%8), mikrosefali (%6), boy kısalığı (%6), göz anomalileri (%6), mikrosefali (%6) ve mental retardasyondur (%3). Hastaların ekstrarenal bulguları Tablo 4.2'de verilmiştir.

4.4. Hastalara Uygulanan Tedaviler ve Hastaların Prognozları

Tedavi uygulama oranı en yüksek olan grup NPHS1 grubuydu ve bu gruptaki hastaların %65'ine tedavi uygulanmıştı. NPHS1 grubundaki hastaların çoğuna destekleyici tedaviler verilmişti. Bu hastaların %60'ı albumin, %13'ü ADEİ, %5'i indometazin tedavisi almıştı. Aynı gruptaki hastaların %8'ine de steroid tedavisi uygulanmıştı. NPHS2 grubundaki hastaların %56'sına tedavi uygulanmıştı ve bu hastaların çoğuna immünosupresif tedavi verilmişti. Bu hastaların %38'i steroid, %19'u siklosporin A, %19'u siklofosfamid tedavisi almıştı. Aynı gruptaki hastalarda destekleyici tedavi verilme oranı düşük bulunmuş ve hastaların %19'u ADEİ, %13'ü albumin tedavisi almıştı. WT1 grubundaki hastaların %38'ine tedavi

Tablo 4.2: Hastalarda saptanan böbrek dışı bulgular.

	NPHS1	NPHS2	WT1	LAMB2	Mutasyon yok
Konjenital kalp hastalığı	%13	%13	%25	-	%8
Hipotiroidi	%5	%6	%13	-	-
Boy kısalığı	%5	-	-	-	%6
Prematürite	%5	%6			-
Mental retardasyon	-	%6	-	-	%3
Konvülsiyon		%6	%13		-
Genital anomaliler	-	-	%25	-	-
Göz anomalileri	-	-	-	%100	%6
Fasiyal dismorfizm	%5	-	-	-	%8
Sağırılık	-	-	-	-	%8
Mikrosefali	-	-	-	-	%6
Toplam	%33	%31	%50	%100	%35

uygulanmıştı ve %25'i steroid, %13'ü albumin tedavisi almıştı. LAMB2 grubundaki hiçbir hastaya tedavi uygulanmamıştı. Hastalara uygulanan tedaviler Tablo 4.3'te verilmiştir.

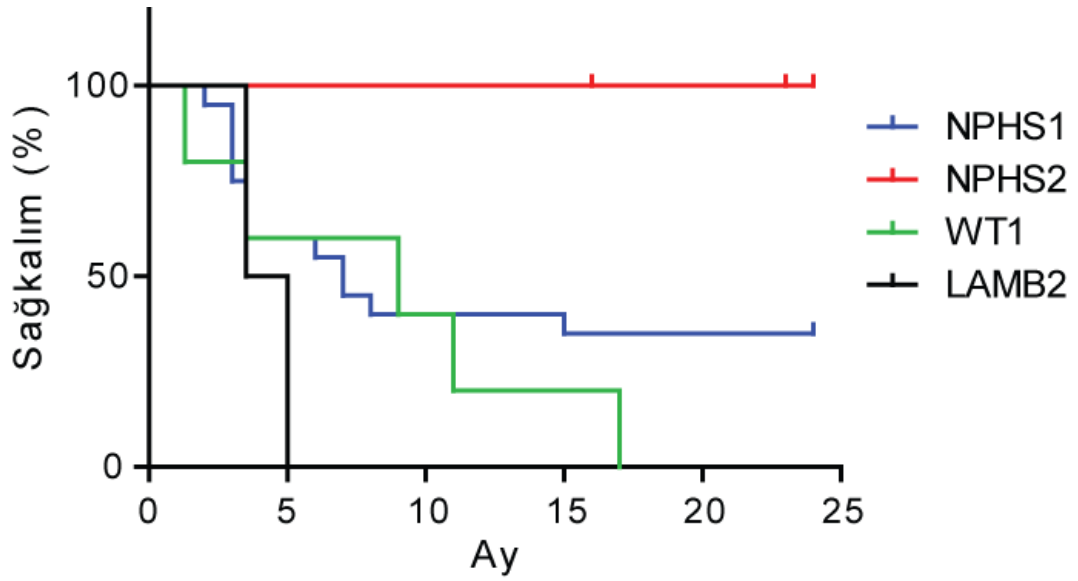
Mutasyon saptanan hastaların anne-babaları hastaların son tıbbi durumlarını öğrenmek için telefonla arandı (Temmuz 2014) ve toplam 38 hastaya ulaşıldı. NPHS1 grubunda 22, NPHS2 grubunda 8, WT1 grubunda 6, LAMB2 grubunda 2 hastanın anne veya babasına telefonla ulaşılabildi ve hastaların diyalize başlanma, renal transplantasyon yapılma ve eksitus olma durumları öğrenildi. NPHS1 grubunda ulaşılan hastaların %14'üne (3 hasta) ortalama 21.3 ayda periton diyalizi uygulanmaya başlanmıştı. Aynı gruptaki 5 hastaya (%23) renal transplantasyon yapılmış (4 canlı, 1 kadavra donörden) ve bu işlem ortalama 20 ayda yapılmıştı. NPHS2 grubunda ulaşılan hastaların %22'sine (2 hasta) ortalama 42 ayda periton diyalizi uygulanmıştı. Bu gruptaki hastaların hiçbirine renal transplantasyon yapılmamıştı. WT1 grubunda ulaşılan hastaların tümüne (6 hasta) ortalama 8.2 ayda periton diyalizi uygulanmıştı. Bu grupta bir hastaya canlı donörden renal

transplantasyon yapılmıştı. LAMB2 grubunda ulaşılan hastaların hiçbirine periton diyalizi veya renal transplantasyon yapılmamıştı.

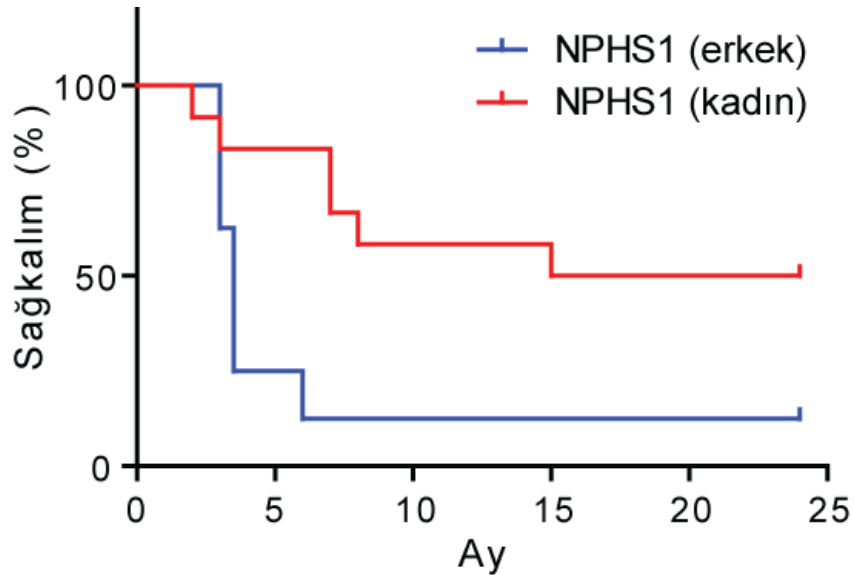
Tüm gruplara bir arada bakıldığında ulaşılan hastaların 1 yıllık sağ kalım oranları %50, 2 yıllık sağ kalım oranları %42'ydi. Mutasyon saptanan genlere göre sağkalım durumlarına bakıldığında NPHS1 grubunda ulaşılan hastaların %65'inin ortalama 5.1 ayda eksitus olduğu görüldü. NPHS2 grubunda ulaşılan hastaların tümü Temmuz 2014 itibariyle hayattaydı. WT1 ve LAMB2 gruplarında ise ulaşılan tüm hastalar ortalama 8.3 ve 4.2 ayda eksitus olmuştu. Hastalara uygulanan renal replasman tedavisi ve sağkalım ile ilgili bilgiler Tablo 4.3'te verilmiştir. Mutasyon saptanan genlere göre hastaların yaşamın ilk iki yılında sağkalım eğrileri Şekil 4.2'de verilmiştir. NPHS2 grubunda sağkalım oranı diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulundu (Log-rank testi. NPHS2 vs NPHS1 $p=0.004$, NPHS2 vs WT1 $p=0.0001$, NPHS2 vs LAMB2 $p=0.0009$). NPHS1, WT1 ve LAMB2 grupları arasında sağkalım açısından anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). NPHS1 grubundaki hastaların sağkalımları ile cinsiyet arasında kuvvetli bir ilişki vardı. NPHS1 mutasyonu olan kızların sağkalımları erkeklere göre anlamlı olarak yüksekti (Şekil 4.3, Log-rank testi, $p=0.02$). Bu bulgunun hastalığın erkeklerde daha erken başlangıç göstermesiyle açıklanabileceği düşünüldü ve buna yönelik incelemeler yapıldı, fakat NPHS1 mutasyonu olan erkek ve kızlar arasında hastalık başlangıç yaşı açısından anlamlı fark bulunmadı (Şekil 4.4). Diğer gruplarda cinsiyet ile sağkalım veya hastalık başlangıcı arasında ilişki bulunmadı.

Tablo 4.3: Hastalara uygulanan tedaviler, periton diyalizi ve renal transplantasyon uygulanma durumu ve eksitus olma durumu. Veriler ortalama±ortalamanın standart hatası olarak verilmiştir. ADEİ: anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü.

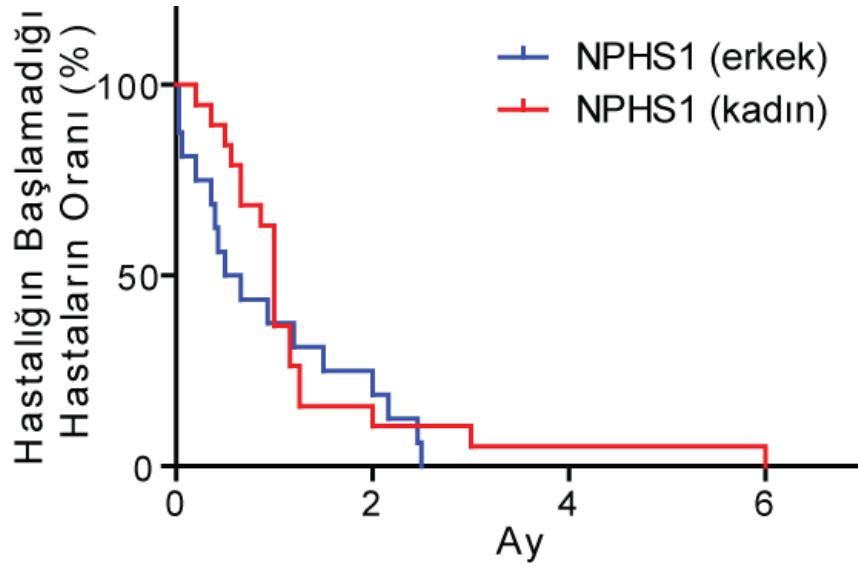
	NPHS1	NPHS2	WT1	LAMB2
Toplam tedavi uygulanma oranı (%)	%65	%56	%38	-
Albumin (%)	%60	%13	%13	-
Steroid (%)	%8	%38	%25	-
Siklofosfamid (%)	-	%19	-	-
Siklosporin A (%)	-	%19	-	-
ADEİ (%)	%13	%19	-	-
İndometazin (%)	%5	-	-	-
Telefonla ulaşılan hasta sayısı	22/38	8/16	6/8	2/4
Diyaliz ihtiyacı (%)	%14	%22	%100	%0
Diyaliz başlangıç yaşı (ay)	21.3±2.3	42±2.1	8.2±2.8	-
Renal transplantasyon (%)	%23	%0	%17	%0
Renal transplantasyon yaşı (ay)	20±0.69	-	60	-
Donör durumu (canlı/kadavra)	4 canlı/1 kadavra	-	1 canlı	-
Mortalite (%)	%65	%0	%100	%100
Ortalama ölüm yaşı (ay)	5.1±0.5	-	8.3±2.2	4.2±0.5



Şekil 4.2: Mutasyon saptanan genlere göre hastaların yaşamın ilk iki yılında sağkalım analizi. (Log-rank testi. NPHS2 vs NPHS1 $p=0.004$, NPHS2 vs WT1 $p=0.0001$, NPHS2 vs LAMB2 $p=0.0009$, diğer gruplar arasında anlamlı fark yok, $p>0.05$)



Şekil 4.3: NPHS1 mutasyonu saptanan hastalarda cinsiyete göre yaşamın ilk iki yılında sağkalım analizi. (Log-rank testi. NPHS1 erkek vs NPHS1 kadın $p=0.02$)



Şekil 4.4: *NPHS1* mutasyonu saptanan hastalarda cinsiyete göre hastalık başlangıç yaşı (Log-rank testi, $p > 0.05$).

4.5. Hastalarda Saptanan Mutasyonlar

66 hastada toplamda 32 farklı *NPHS1* mutasyonu, 8 farklı *NPHS2* mutasyonu, 5 farklı *WT1* mutasyonu ve 4 farklı *LAMB2* mutasyonu saptandı. Genlere göre saptanan mutasyonlarla ilgili bilgiler aşağıda belirtilmiştir.

4.5.1. *NPHS1*

NPHS1 mutasyonu saptanan 38 hastada toplam 32 farklı mutasyon bulundu. Bu mutasyonların 21'i daha önce tanımlanmış mutasyonlardı, 11'i ise ilk kez bu çalışmada tanımlandı. *NPHS1* mutasyonu saptanan hastaların 32'sinde homozigot mutasyonlar, 6'sında ise bileşik heterozigot mutasyonlar saptandı. En sık görülen mutasyon nonsense c. 3478C>T p.(Arg1160Ter) mutasyonuydu ve toplam 5 hastada homozigot olarak saptandı. Bu mutasyona sahip olan hastaların ikisi kardeşti ve Şırnak'lıydı, diğer hastalar ise Batman, İran ve Suriye'liydi. İki hastada homozigot olarak bulunan nonsense c.3325C>T p.(Arg1109Ter) mutasyonu bir hastada da heterozigot olarak mevcuttu ve bu hastaların tümü Dazkırı/Afyonkarahisar'lıydı. İki

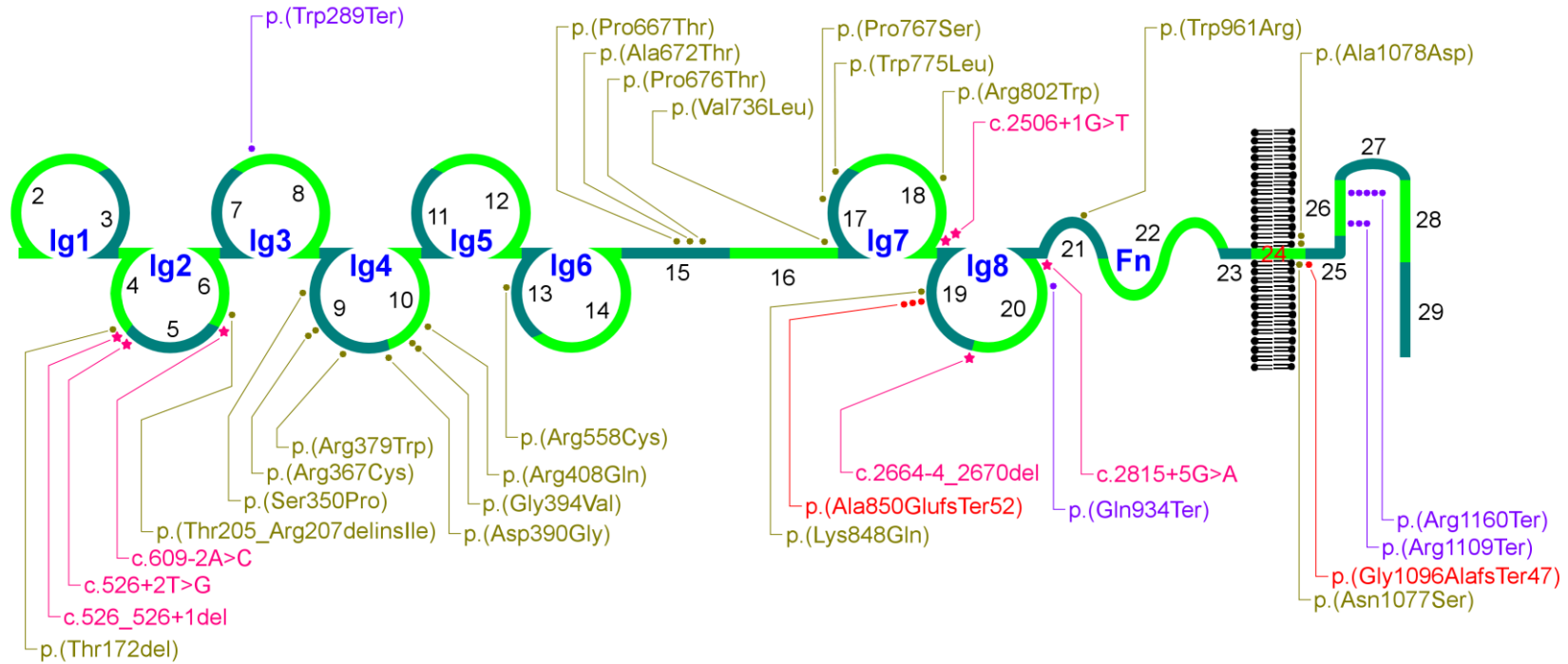
hastada missense c.1181G>T p.(Gly394Val) mutasyonu homozigot olarak saptandı ve bu hastaların ikisi de Amasya'lıydı. c.2506+1G>T splice site mutasyonu iki hastada saptandı ve bu hastalar kardeşti. Hastalarda saptanan *NPHS1* mutasyonları Tablo 4.4'te, mutasyonların proteinin yapısına göre yerleşimleri Şekil 4.5'te verilmiştir. Hastalarda saptanan *NPHS1* mutasyonu tipi (protein kırıcı veya missense) ile hastalık başlangıç yaşı (Şekil 4.6) ve sağkalım (Şekil 4.7) arasında bir ilişki bulunamadı. *NPHS1* mutasyonlarının proteinde değişiklik yaptığı pozisyon ile sağkalım arasındaki ilişkiye bakıldığında en az bir allelde nefrin proteininin transmembran veya intraselüler bölgelerini etkileyen mutasyonlara sahip olan hastalarda sağkalımın ekstraselüler bölgeyi etkileyen homozigot mutasyonlara sahip hastalara göre daha iyi olduğu görüldü (Şekil 4.8, Log-rank testi, p=0.04). Bu iki grup arasında hastalık başlangıç yaşı açısından anlamlı fark yoktu (Şekil 4.9).

Tablo 4.4: Hastalarda saptanan *NPHS1* mutasyonları

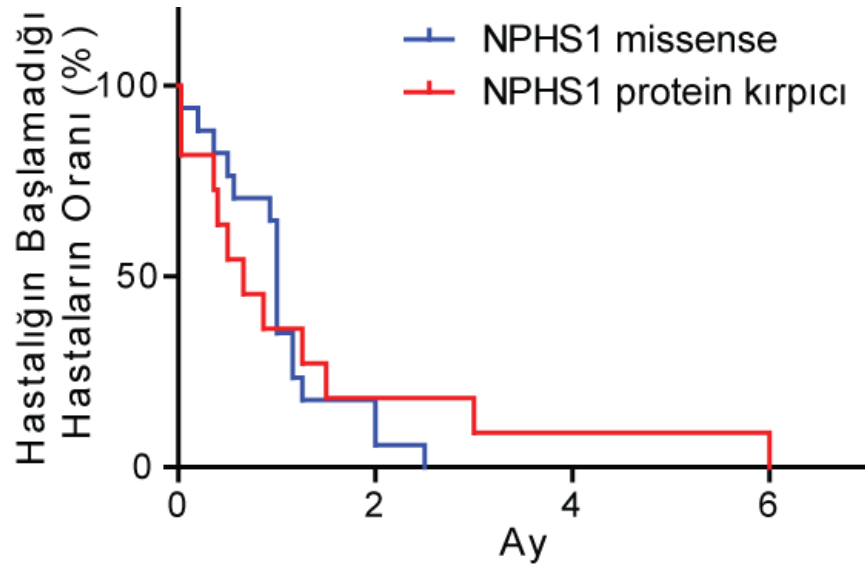
Mutasyon	Zigosite	Hasta Sayısı	Referans
c.2664-4_2670del p.?	Homozigot	1	(73)
c.2815+5G>A p.?	Homozigot	1	(74)
c.2542A>C p.(Lys848Gln); c.2549_2558del p.(Ala850GlufsTer52)	Bileşik heterozigot	1	yok/(73)
c.1169A>G p.(Asp390Gly)	Homozigot	1	yok
c.866G>A p.(Trp289Ter)	Homozigot	1	(74)
c.2206G>T p.(Val736Leu)	Homozigot	1	yok
c.3325C>T p.(Arg1109Ter)	Homozigot	2	(48)
c.2404C>T p.(Arg802Trp)	Homozigot	1	(51)
c.2800C>T p.(Gln934Ter)	Homozigot	1	yok
c.1099C>T p.(Arg367Cys); c.1135C>T p.(Arg379Trp)	Bileşik heterozigot	1	(51)/(75)

Tablo 4.4 (devam): Hastalarda saptanan *NPHS1* mutasyonları

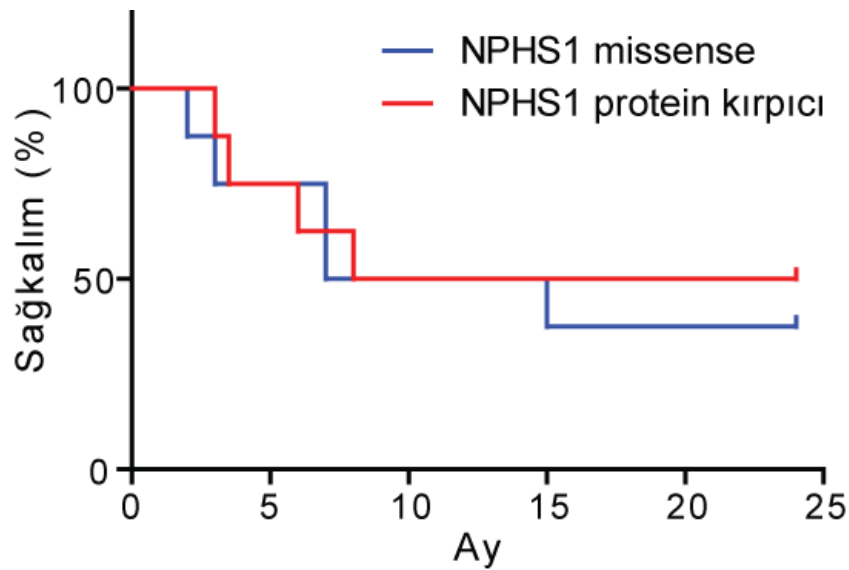
c.3478C>T p.(Arg1160Ter)	Homozigot	5	(51)
c.3230A>G p.(Asn1077Ser)	Homozigot	1	(76)
c.3233C>A p.(Ala1078Asp)	Homozigot	1	(76)
c.2506+1G>T p.?	Homozigot	2	yok
c.1099C>T p.(Arg367Cys)	Homozigot	1	(51)
c.2549_2558del p.(Ala850GlufsTer52)	Homozigot	1	(73)
c.1181G>T p.(Gly394Val)	Homozigot	2	yok
c.614_621delinsTT p.(Thr205_Arg207delinslle)	Homozigot	1	(51)
c.1999C>A p.(Pro667Thr); c.2026C>A p.(Pro676Thr)	Bileşik heterozigot	1	yok/yok
c.2014G>A p.(Ala672Thr); c.3233C>A p.(Ala1078Asp)	Bileşik heterozigot	1	(77)/(76)
c.3325C>T p.(Arg1109Ter); c.526_526+1del p.?	Bileşik heterozigot	1	(48)/yok
c.1672C>T p.(Arg558Cys)	Homozigot	1	(75)
c.1048T>C p.(Ser350Pro)	Homozigot	1	(51)
c.1223G>A p.(Arg408Gln)	Homozigot	1	(51)
c.515_517del p.(Thr172del)	Homozigot	1	(51)
c.2324G>T p.(Trp775Leu)	Homozigot	1	(77)
c.2299C>T p.(Pro767Ser)	Homozigot	1	yok
c.526+2T>G p.?	Homozigot	1	(7)
c.609-2A>C p.?	Homozigot	1	(53)
c.2549_2558del p.(Ala850GlufsTer52); c.3287del p.(Gly1096AlafsTer47)	Bileşik heterozigot	1	(73)/yok
c.2881T>C p.(Trp961Arg)	Homozigot	1	(77)



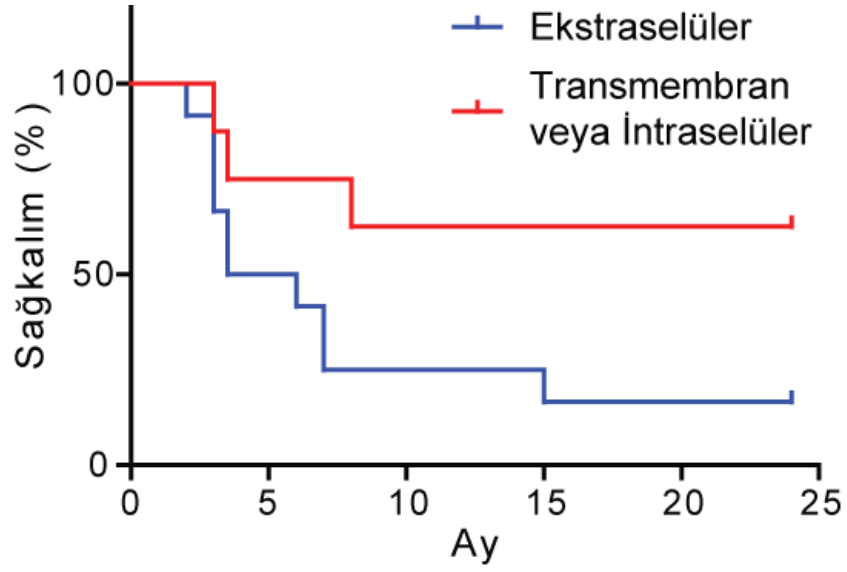
Şekil 4.5: Hastalarda saptanan *NPHS1* mutasyonlarının proteindeki yerleşimleri. Sarı renkli mutasyonlar 1-3 aminoasit değişikliğine neden olan, mor renkli mutasyonlar nonsense, kırmızı renkli mutasyonlar çerçeve kayması, pembe renkli mutasyonlar intronik mutasyonları göstermektedir. Nefrin proteininin ekstraselüler kısmı 8 immüoglobulin benzeri (Ig1-8) ve 1 fibronektin benzeri (Fn) bölgeden oluşmaktadır, proteinin ayrıca transmembran ve intraselüler kısımları da bulunmaktadır. Siyah ile yazılan numaralar ilgili bölgeyi kodlayan ekzonları belirtmektedir. Her nokta bir hastayı temsil etmektedir.



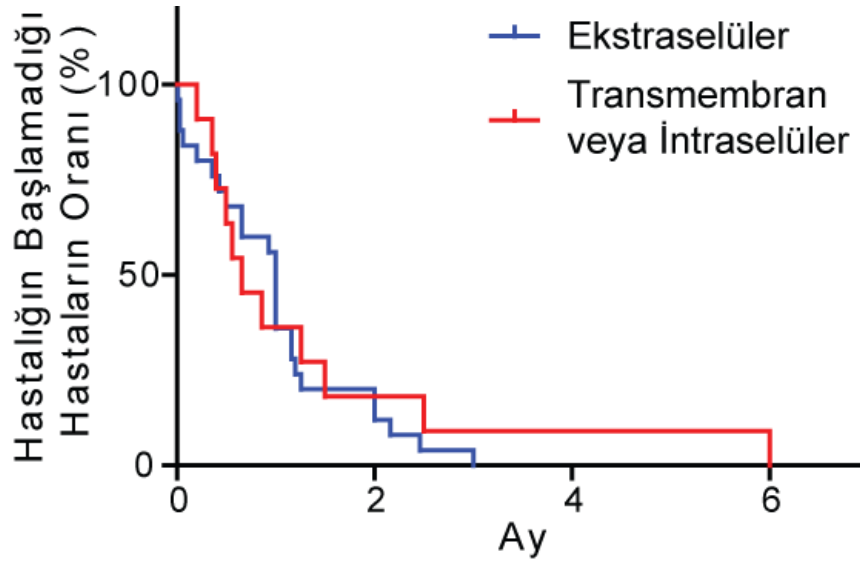
Şekil 4.6: *NPHS1* mutasyonu saptanan hastalarda mutasyon tipi ile hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki (Log-rank testi, $p > 0.05$).



Şekil 4.7: *NPHS1* mutasyonu saptanan hastalarda mutasyon tipi ile sağkalım arasındaki ilişki (Log-rank testi, $p > 0.05$).



Şekil 4.8: *NPHS1* mutasyonu saptanan hastalarda mutasyon pozisyonu ile sağkalım arasındaki ilişki (Log-rank testi, $p=0.04$).



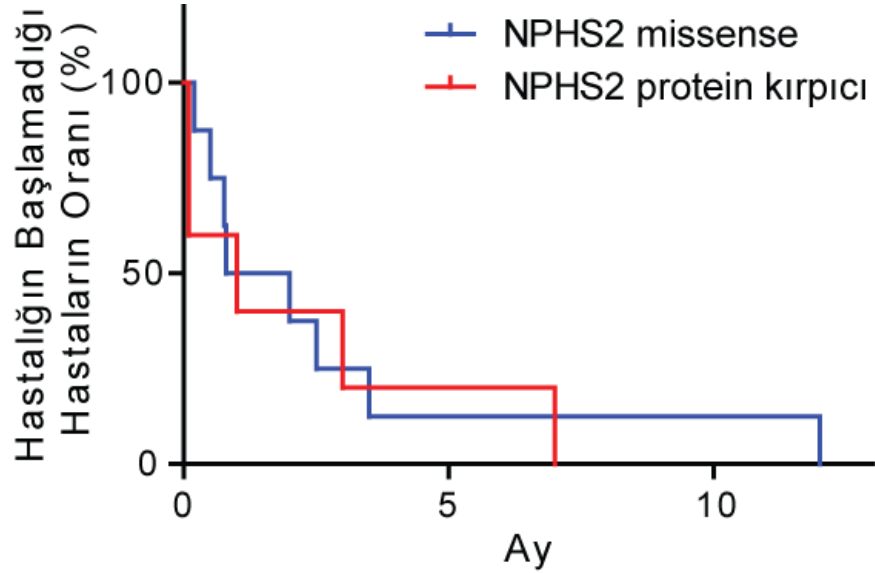
Şekil 4.9: *NPHS1* mutasyonu saptanan hastalarda mutasyon pozisyonu ile hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki (Log-rank testi, $p>0.05$).

4.5.2. *NPHS2*

NPHS2 mutasyonu saptanan 16 hastada toplam 8 farklı mutasyon bulundu. Bu mutasyonların tümü daha önce tanımlanmış mutasyonlardı. *NPHS2* mutasyonu saptanan hastaların 15'inde homozigot, bir hastada da bileşik heterozigot mutasyonlar saptandı. En sık saptanan mutasyon 6 hastada homozigot olarak gösterilen missense c.353C>T p.(Pro118Leu) mutasyonuydu ve bu hastaların 5'i Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri'ndendi (2 hasta Şanlıurfa, 1 hasta Gaziantep, 1 hasta Muş, 1 hasta Erzurum), 1 hastanın kökeni bilinmiyordu. Dört hastada homozigot olarak görülen bir bazlık bir insersiyon olan c.467_468insT p.(Leu156PhefsTer11) mutasyonu saptandı ve bu hastaların ikisi ikiz kardeşi ve Isparta'lıydı, diğer iki hasta ise Niğde ve Nevşehir'liydi. Hastalarda saptanan *NPHS2* mutasyonları Tablo 4.5'te verilmiştir. Hastalarda saptanan *NPHS2* mutasyonu tipi (protein kırıcı veya misense) ile hastalık başlangıç yaşı arasında bir ilişki bulunamadı (Şekil 4.10). *NPHS2* mutasyonu saptanan ve telefonla ulaşılan tüm hastalar hayatta olduğundan mutasyon tipi ile sağkalım arasında ilişki olup olmadığı belirlenemedi.

Tablo 4.5: Hastalarda saptanan *NPHS2* mutasyonları

Mutasyon	Zigosite	Hasta Sayısı	Referans
c.259G>T p.(Glu87Ter)	Homozigot	1	(78)
c.353C>T p.(Pro118Leu)	Homozigot	6	(79)
c.928G>A p.(Glu310Lys)	Homozigot	1	(77)
c.467_468insT p.(Leu156PhefsTer11)	Homozigot	4	(80)
c.503G>A p.(Arg168His)	Homozigot	1	(79)
c.379G>T p.(Val127Phe)	Homozigot	1	(81)
c.503G>A p.(Arg168His); c.809T>A p.(Leu270Ter)	Bileşik heterozigot	1	(79)/(82)
c.413G>A (p.Arg138Gln)	Homozigot	1	(60)



Şekil 4.10: *NPHS2* mutasyonu saptanan hastalarda mutasyon tipi ile hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki (Log-rank testi, $p>0.05$).

4.5.3. *WT1*

WT1 mutasyonu saptanan 8 hastada toplam 5 farklı heterozigot mutasyon saptandı. Bu mutasyonlardan 4'ü daha önce tanımlanmış mutasyonlardı, bir tanesi ise ilk kez bu çalışmada tanımlandı. En sık saptanan mutasyon 3 hastada gösterilen missense c.1097G>A (p.R366H) mutasyonuydu, bunu 2 hastada gösterilen missense c.1180C>T (p.R394W) mutasyonu izlemekteydi. Hastalarda saptanan mutasyonlarla hastaların kökeni arasında bir ilişki saptanmadı. Hastalarda saptanan *WT1* mutasyonları Tablo 4.6'da verilmiştir.

4.5.4. *LAMB2*

LAMB2 mutasyonu saptanan 4 hastada 4 farklı homozigot mutasyon saptandı. Bu mutasyonların birisi hariç tümü ilk kez bu çalışmada tanımlandı. Hastalarda saptanan *LAMB2* mutasyonları Tablo 4.7'de verilmiştir.

Tablo 4.6: Hastalarda saptanan *WT1* mutasyonları

Mutasyon	Zigosite	Hasta Sayısı	Referans
c.1186G>C (p.Asp396His)	Heterozigot	1	yok
c.1097G>A (p.Arg366His)	Heterozigot	3	(72)
c.1180C>T (p.Arg394Trp)	Heterozigot	2	(72)
IVS9+5G>T	Heterozigot	1	(83)
c.1186G>A (p.Asp396Asn)	Heterozigot	1	(84)

Tablo 4.7: Hastalarda saptanan *LAMB2* mutasyonları

Mutasyon	Zigosite	Hasta Sayısı	Referans
c.1405+3A>T p.?	Homozigot	1	yok
c.4537C>T p.(Gln1513Ter)	Homozigot	1	yok
c.391del p.(Ile131LeufsTer20)	Homozigot	1	yok
c.459+2T>C p.?	Homozigot	1	(85)

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada hem Dünya’da hem de Türkiye’de ilk kez konjenital ve infantil nefrotik sendroma neden olan genetik bozukluklar ve bunların klinik bulgular ve sağkalım ile ilişkisi incelenmiştir. Hastaların %65’inde çalışılan 4 genden (*NPHS1*, *NPHS2*, *WT1*, *LAMB2*) birisinde hastalığa neden olan mutasyonlar saptanmıştır. Mutasyonlar en sık *NPHS1* geninde saptanmıştır (%37). Mutasyon saptama oranı konjenital nefrotik sendromlu hastalarda infantil nefrotik sendromlu hastalara göre iki kat daha yüksek bulunmuştur (%73’e karşılık %36). Konjenital nefrotik sendrom hastalarında en sık mutasyon saptanan gen *NPHS1* iken infantil nefrotik sendrom hastalarında *NPHS2* ve *WT1* olmuştur. *NPHS2* mutasyonu saptanan hastaların sağkalım oranı diğer genlerde mutasyon saptanan hastalara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. *NPHS1* mutasyonu saptanan kadın hastalarda sağkalım oranı erkeklere göre belirgin olarak yüksek bulunmuştur. *NPHS1* geninde proteinin ekstraselüler bölgesini ilgilendiren mutasyonlara sahip hastalarda sağkalım proteinin diğer bölgelerini ilgilendiren mutasyonlara sahip hastalara göre daha düşük bulunmuştur.

Bu çalışmada konjenital nefrotik sendromlu hastaların %46’sında *NPHS1*, %16’sına *NPHS2*, %6’sında *WT1*, %4’ünde *LAMB2* mutasyonu bulunmuştur, hastaların %27’sinde ise mutasyon saptanmamıştır. Daha önce yapılan ve Batı Avrupa’lı hastaların çoğunlukta olduğu bir çalışmada konjenital nefrotik sendrom hastalarının %60’ında *NPHS1*, %15’inde *NPHS2*, %6’sında diğer genlerde (*WT1*, *LAMB2*, *PLCE1*) mutasyonlar saptanmış, hastaların %19’unda ise bu genlerde mutasyon saptanmamıştır (77). Orta Avrupa’lı hastalarının çoğunlukta olduğu başka bir çalışmada ise konjenital nefrotik sendrom hastalarının %39’unda *NPHS1*, %39’unda *NPHS2*, %2’sinde *WT1*, %4’ünde *LAMB2* mutasyonları gösterilmiş, hastaların %15’inde ise mutasyon saptanmamıştır (7). Infantil nefrotik sendrom hastalarına bakıldığında ise bizim çalışmamızda hastaların %4’ünde *NPHS1*, %14’ünde *NPHS2*, %14’ünde *WT1* ve %4’ünde *LAMB2* mutasyonları saptanmış, %64’ünde ise mutasyon saptanmamıştır. Önceki bir çalışmada

ise infantil nefrotik sendromlu hiçbir hastada *NPHS1* mutasyonu saptanmazken hastaların %35'inde *NPHS2*, %6'sında *WT1*, %3'ünde *LAMB2* mutasyonu saptanmış, hastaların %56'sında ise mutasyon saptanmamıştır (7). Bahsedilen çalışma ile bu çalışma arasındaki mutasyon saptanan genlerin oranlarının farklılığı hastaların etnik kökeni ile açıklanabilir. Adı geçen çalışmada hastaların %71'i Orta Avrupa kökenli olup %29'u Türk kökenlidir. Bu çalışmada ise hastaların %90'ı Türk kökenli olup diğer hastalar Ortadoğu ve Balkanlar kökenliydi. Orta Avrupa kökenli hastaların çoğunlukta olduğu önceki çalışmada 1 yaş altındaki tüm hastalara bakıldığında en sık mutasyon saptanan gen *NPHS2* (%38) olurken bunu *NPHS1* (%22) izlemiştir (7). Aynı çalışmadaki Türk hastalara ayrı olarak bakıldığında en sık mutasyon saptanan gen bizim çalışmamızda olduğu gibi *NPHS1* (%26) iken *NPHS2* mutasyonları Türk hastaların sadece %13'ünde saptanmıştır (7). Türk hastaların ağırlıklı olarak bulunduğu bizim çalışmamızda en sık mutasyon saptanan gen *NPHS1* (%37) olmuştur, *NPHS2* mutasyonları hastaların sadece %16'sında saptanmıştır. Tüm bu bilgiler etnik kökene göre konjenital ve infantil nefrotik sendroma neden olan mutasyonların saptandığı genlerin sıklığının değiştiğini göstermekte ve Türk toplumunda *NPHS1* geninin 1 yaş altı nefrotik sendromdan en sık sorumlu olan gen olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda tüm hastalara birlikte bakıldığında 4 genden birisinde mutasyon saptama oranı %65 iken bu oran önceki bir çalışmada %66 olarak bulunmuştur (7). Bizim çalışmamızda konjenital nefrotik sendromlu hastalarda 4 genden birisinde mutasyon saptama oranı %73 iken infantil nefrotik sendromlu hastalarda %36 olarak bulunmuştur. Daha önce yapılan bir çalışmada ise bu oranlar %85 ve %44 olarak bulunmuştur (7). Bahsi geçen çalışmadaki Türk hastalar ayrı olarak incelendiğinde bu oranların %64 ve %25 olduğu görülmüştür (7). İspanya'dan toplam 23 konjenital ve infantil nefrotik sendrom hastasının yer aldığı bir çalışmada konjenital nefrotik sendromlu hastaların hepsinde *NPHS1* (%80), *NPHS2* (%7) veya *WT1*(%13) genlerinde mutasyonlar saptanmıştır (86). Aynı çalışmada infantil nefrotik sendrom hastalarının ise %57'sinde bu üç genden birinde (*NPHS1* %14, *NPHS2* %29, *WT1* %14) mutasyonlar saptanmıştır. Bu durum göstermektedir

ki Türk hastalarda bu dört genden birisinde mutasyon saptama oranı Avrupa'lı hastalara göre daha düşüktür ve bu bulgu Türk toplumunda 1 yaş altı nefrotik sendromdan sorumlu olan tanımlanmamış başka genetik bozukluklar olabileceğini düşündürmektedir. Hem bizim çalışmamızda hem de önceki çalışmalarda konjenital nefrotik sendrom hastalarında mutasyon saptama oranı infantil nefrotik sendrom hastalarına göre 2 kat yüksek bulunmuştur. Bu bulgu özellikle infantil nefrotik sendromlu hastalarda hastalıktan sorumlu başka bilinen veya bilinmeyen genler olabileceğini düşündürmektedir. Yine bu bulgular infantil nefrotik sendromun bazı hastalarda genetik olmayan nedenlere bağlı olarak da gelişmiş olabileceğini düşündürmektedir.

Her ne kadar bizim çalışmamızda 1 yaş altında 4 genden birisinde toplam mutasyon saptama oranı (%65) önceki çalışmayla (%66) (7) benzer olsa da yukarıda anlatıldığı üzere ayrı ayrı konjenital ve infantil nefrotik sendrom hastalarına bakıldığında bizim çalışmamızdaki mutasyon saptama oranları daha düşük bulunmuştur. Bunun nedeni bizim çalışmamızda önceki çalışmaya göre daha fazla konjenital nefrotik sendrom hastası bulunmasıdır. Bizim çalışmamızda tüm hastaların %78'i konjenital nefrotik sendrom hastasıyken önceki çalışmada hastaların %58'i konjenital nefrotik sendrom hastasıydı (7). Bu durum hekimlerin konjenital nefrotik sendrom hastalarında infantil nefrotik sendrom hastalarına göre daha ön planda genetik nedenler düşünerek laboratuvarımıza kan örneklerini göndermeleri ile açıklanabilir.

Bu çalışmada *NPHS1* mutasyonu saptanan hastaların %97'si konjenital nefrotik sendrom hastası iken %3'ü infantil nefrotik sendrom hastasıydı. Daha önce yapılan bir çalışmada ise *NPHS1* mutasyonu saptanan hastaların tümünün konjenital nefrotik sendrom hastası olduğu gösterilmiştir (7). Bu çalışmada *NPHS1* mutasyonu saptanan 38 hastada 32 farklı mutasyon bulunmuş ve bu mutasyonların 11'i ilk kez bu çalışmada tanımlanmıştır. *NPHS1* mutasyonlarına bağlı olarak görülen Fin Tipi Konjenital Nefrotik Sendromun ilk tanımlandığı ülke olan Finlandiya'da en sık görülen mutasyon olan Fin-majör (p.Leu41AspfsTer50) mutasyonu hiçbir

hastada görülmezken Finlandiya’da ikinci en sık mutasyon olan Fin-minör (p.Arg1109Ter) mutasyonu sadece 2 hastada homozigot, 1 hastada da heterozigot olarak görülmüştür. Fin-minör mutasyonunun görüldüğü hastaların tümü Dazkırı/Afyonkarahisar’lıydı. En sık saptanan *NPHS1* mutasyonu 5 hastada gösterilen c. 3478C>T p.(Arg1160Ter) olmuştur ve mutasyonuna sahip olan bireyler Güneydoğu Anadolu illerinden ve Ortadoğu ülkelerindendi. Bu mutasyonun daha önceki çalışmalarda özellikle kadın hastalarda iyi prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (52). Bizim hastalarımızda bu mutasyonun gösterildiği ikisi kardeş olan toplam 5 hastanın sadece üçünün son durumları ile ilgili bilgi elde edilmiştir. Kardeş olan hastalardan kız olan 4.5 yaşında ve halen hayatta iken erkek olan 3 aylıkken eksitus olmuştur. Bu mutasyonun saptandığı başka bir kız hastanın ise 8 aylıkken eksitus olduğu öğrenilmiştir. Bu mutasyona sahip olan kardeşler Şırnak’lıydı, diğer hastalar ise Batman, İran ve Suriye’dendi. c.1181G>T p.(Gly394Val) mutasyonu ise iki hastada saptandı ve bu hastaların ikisi de Amasya’lıydı. Bu bulgular göstermektedir ki hastaların kökeni ile saptanan mutasyonlar arasında kuvvetli bir ilişki vardır ve adı geçen bölgelerden köken alan hastalarda öncelikli olarak ilgili mutasyonlar araştırılmalıdır. Bu çalışmada *NPHS1* mutasyonu saptanan hastalarda mutasyon tipi (protein kırpıcı veya missense) ile hastalık başlangıç yaşı ve sağkalım arasında ilişki olmadığı gösterilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada da *NPHS1* mutasyonu saptanan konjenital nefrotik sendrom hastalarında mutasyon tipi ile hastalık başlangıç yaşı arasında ilişki olmadığı gösterilmiştir (77). Bu çalışmada en az bir allelede nefrin proteininin transmembran veya intraselüler bölgelerini ilgilendiren bir mutasyona sahip olan hastalarda sağkalımın ekstraselüler bölgeyi etkileyen homozigot mutasyona sahip hastalara göre daha iyi sağkalım ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Fakat mutasyonların etkilediği protein bölgesine göre hastalık başlangıç yaşı arasında ilişki bulunmamıştır. Daha önce yapılan bir çalışmada da nefrin proteininin sitoplazmik bölgesini etkileyen mutasyonların daha hafif klinik seyir ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (77).

Bu çalışmada *NPHS2* mutasyonu saptanan hastaların %81'i konjenital nefrotik sendrom hastasıyken %19'u infantil nefrotik sendrom hastasıydı. Daha önce yapılan bir çalışmada ise *NPHS2* mutasyonu saptanan hastaların %60'ı konjenital nefrotik sendrom hastasıyken %40'ının infantil nefrotik sendrom hastası olduğu gösterilmiştir (7). Bu çalışmada *NPHS2* mutasyonu saptanan 16 hastada toplam 8 farklı mutasyon bulunmuştur ve bu mutasyonların tümü daha önce tanımlanmıştır. Özellikle Avrupa'lı hastalarda sık görülen, tüm mutant allellerin %32'sini oluşturduğu bilinen (2) ve Batı Avrupa'lı hastaların çoğunlukta olduğu bir konjenital nefrotik sendrom kohortunda *NPHS2* mutasyonu saptanan bireylerin %50'sinde bulunan (77) c.413G>A (p.Arg138Gln) mutasyonu bizim çalışmamızdaki hastalardan sadece birinde homozigot olarak gösterilmiştir. En sık saptanan *NPHS2* mutasyonu 6 hastada homozigot olarak görülen c.353C>T p.(Pro118Leu) mutasyonuydu ve bu hastaların kökeni bilinen beşi de Doğu ve Güneydoğu Anadolu'luydu. c.467_468insT p.(Leu156PhefsTer11) mutasyonu ikisi ikiz kardeş olan toplam 4 hastada saptandı ve ikiz kardeşler Isparta, diğer hastalar ise Niğde ve Nevşehir kökenliydi. Bu sonuçlar Türk toplumunda görülen mutasyonların Avrupa'lılara göre farklı olduğunu göstermektedir. Ayrıca adı geçen bölgelerden köken alan hastalarda öncelikli olarak ilgili mutasyonların araştırılması gerektiğini göstermektedir. Çocukluk ve genç erişkinlik döneminde başlangıç gösteren ve *NPHS2* mutasyonu saptanan SDNS hastalarının yer aldığı bir kohortta protein kırıcı mutasyonların missense mutasyonlara göre daha erken hastalık başlangıcı ve daha kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (87). *NPHS2* mutasyonu saptanan konjenital nefrotik sendrom hastalarında ise hastalık başlangıç yaşının çok heterojen olduğu önceki bir çalışmada gösterilmiştir ve o çalışmada genotip ile hastalık başlangıç yaşı arasındaki ilişki bu nedenle araştırılmamıştır (77). Bizim çalışmamızda *NPHS2* mutasyonu saptanan konjenital ve infantil nefrotik sendrom hastalarında mutasyon tipi ile hastalık başlangıç yaşı arasında bir ilişki olmadığı gösterilmiştir.

Bu çalışmada *WT1* mutasyonu saptanan hastaların %63'ü konjenital nefrotik sendrom, %37'si infantil nefrotik sendrom hastasıydı. Daha önce

yapılan bir çalışmada ise *WT1* mutasyonu saptanan hastaların %33'ü konjenital, %67'si infantil nefrotik sendrom hastası olduğu gösterilmiştir (7). Bahsi geçen çalışmadaki 3 hasta da Orta Avrupa kökenliydi. Bizim çalışmamız ile o çalışma arasındaki konjenital ve infantil nefrotik sendrom oranlarındaki farklılık etnik köken ve hasta sayısının yetersizliği ile açıklanabilir. *WT1* mutasyonu saptanan 8 hastada toplam 5 farklı heterozigot mutasyon saptandı ve bu mutasyonlarda biri ilk kez bu çalışmada tanımlandı. En sık saptanan *WT1* mutasyonları 3 hastada saptanan c.1097G>A (p.Arg366His) ve 2 hastada saptanan c.1180C>T (p.Arg394Trp) mutasyonlarıydı. Bu mutasyonlar ile hastaların kökenleri arasında bir ilişki yoktu. *WT1* mutasyonu saptanan hastaların ikisinde genital anomaliler (ambigus genitalya, hipospadias ve bifid skrotum) saptanmıştı ve bu hastaların ikisi de erkekti. Bu hastalar Denys-Drash Sendromu şüphesi ile refere edilmişti.

Bu çalışmada *LAMB2* mutasyonu saptanan hastaların %75'i konjenital, %25'i infantil nefrotik sendrom hastasıydı. Daha önce yapılan bir çalışmada ise hastaların %67'sinin konjenital, %33'ünün infantil nefrotik sendrom hastası olduğu gösterilmiştir (7). *LAMB2* mutasyonu saptanan 4 hastada 4 farklı homozigot mutasyon saptandı ve bu mutasyonlardan üçü ilk kez bu çalışmada tanımlandı. *LAMB2* mutasyonu saptanan hastaların tümünde göz anomalileri (mikrokori, miyozis) mevcuttu ve bu hastalar Pierson Sendromu şüphesi ile refere edilmişti. Bu çalışmada hem *WT1* hem de *LAMB2* mutasyonu saptanan hasta sayısı az olduğundan hastalık başlangıç yaşı ve sağkalım açısından genotip-fenotip ilişkisi kurulamadı, fakat hastaların başlangıçtaki serum kreatinin düzeylerinin *WT1* ve *LAMB2* grubunda diğer gruplara göre çok yüksek olduğu görüldü. Bu bulgu *WT1* ve *LAMB2* grubundaki hastaların önemli kısmının başvuruda böbrek yetmezliği tablosunda olduğunu düşündürmektedir, bu düşünce *WT1* grubundaki ulaşılan tüm hastalara periton diyalizi uygulanmış olması ile de desteklenmektedir. Benzer şekilde *WT1* grubundaki hastaların periton diyalizinin en erken uygulandığı hastalar (ortalama 8.2 ay) olduğu görülmüştür. *WT1* ve *LAMB2* gruplarının sağkalımı en kötü gruplar olması ve

tüm hastaların iki yaşından önce eksitus olmasının nedeni bu hastalarda daha erken gelişen böbrek yetmezliği olabilir. Yapılan bir çalışmada *LAMB2* geninde saptanan protein kırıcı mutasyonların missense mutasyonlara göre çok daha erken hastalık başlangıcı ve son dönem böbrek yetmezliği ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (88). Bizim çalışmamızda *LAMB2* mutasyonu saptanan dört hastanın ikisinde protein kırıcı mutasyonlar, ikisinde de intronik mutasyonlar saptanmıştı, hiçbir hastada missense mutasyon saptanmamıştı. Bizim çalışmamızda *LAMB2* grubundaki hastalarda saptanan erken böbrek yetmezliği bu durum ile açıklanabilir. Başka bir çalışmada *WT1* mutasyonu saptanan hastalarda missense mutasyonların intronik mutasyonlara göre daha erken hastalık başlangıcı ve son dönem böbrek yetmezliği ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (84). Bizim çalışmamızda *WT1* geninde 7 hastada missense, 1 hastada ise intronik mutasyonlar saptandı. *WT1* grubunda erken gelişen böbrek yetmezliği missense mutasyonların yüksek oranda saptanması ile açıklanabilir.

Bu çalışmada *NPHS1* geninde 11, *WT1* geninde 1, *LAMB2* geninde 3 yeni mutasyon tanımlanmıştır. Bu mutasyonların tümü Mutation Taster tarafından olasılıkla hastalığa neden olan mutasyonlar olarak tahmin edilmiştir. Bu bulgular hastaların klinik bulguları ile birlikte değerlendirildiğinde yeni tanımlanan mutasyonların çok yüksek olasılıkla hastalık yapıcı olduğu düşünülebilir. Fakat bu mutasyonların hastalığa neden olduğunun kesin olarak gösterilmesi için fonksiyonel çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Türk toplumunda akraba evliliği oranı çeşitli çalışmalarda %20-25 civarında bulunmuştur ve resesif hastalıklara sahip çocukların ebeveynleri arasında Türkiye ortalamasının çok üstünde akraba evliliği oranı olduğu bilinmektedir (89,90). Bizim çalışmamızda tüm gruplarda saptanan akraba evliliği oranı Türkiye ortalamasının çok üstündeydi. Bu oran özellikle OR kalıtım gösteren *NPHS1* (%81), *NPHS2* (%69) ve *LAMB2* (%100) hastalarında en yüksek olarak bulundu. OD kalıtım gösteren *WT1* hastalarında ise daha düşüktü (%50). Mutasyon saptanmayan bireylerde akraba evliliği oranı ise %47'ydi. Bu sonuçlar akraba evliliğinin özellikle OR

hastalıkların görülme sıklığını artırdığına dair önceki bilgileri desteklemektedir. Yine mutasyon saptanmayan grupta akraba evliliği oranının diğer gruplara göre belirgin olarak düşük olması bu hastalarda görülen nefrotik sendromun bazı hastalarda genetik nedenlere bağlı gelişmemiş olabileceğini de düşündürmektedir.

Hastalık başlangıç yaşına bakıldığında *NPHS1* grubunda diğer gruplara göre hastalık daha erken başlıyordu ve bu gruptaki hastaların %97'sinde hastalık yaşamın ilk üç ayında başlamıştı. Yapılan başka bir çalışmada da *NPHS1* mutasyonu olan hastaların *NPHS2* mutasyonu olanlara göre çok daha erken ve çoğunlukla hayatın ilk ayında hastalık başlangıcı olduğu gösterilmiştir (77). Bizim bulgularımız da bu çalışmayla uyumluydu.

Konjenital nefrotik sendrom hastalarında yapılan bir çalışmada *NPHS1* mutasyonu saptanan hastaların renal sağkalımlarının *NPHS2* mutasyonu saptananlara göre belirgin düşük olduğu gösterilmiştir (77). Aynı çalışmada *NPHS1* mutasyonu saptanan kadın hastaların renal sağkalımlarının erkeklerden daha iyi olduğu gösterilmiştir. Her ne kadar bizim çalışmamızda renal sağkalım verisi hasta sayısı açısından kısıtlı olsa da önceki çalışmaya benzerdi. *NPHS1* mutasyonu saptanan hastaların %14'üne ortalama 21.3 ayda periton diyalizi uygulanmış, %23'üne de ortalama 20 ayda renal transplantasyon yapılmıştı. *NPHS2* hastalarının ise %22'sine ortalama 42 ayda periton diyalizi uygulanırken hiçbir hastaya renal transplantasyon yapılmamıştı. Toplam sağkalım bulgularımız da önceki çalışmanın ve bizim renal sağkalım bulgularımız ile paraleldi. Bu çalışmada *NPHS2* hastalarının sağkalımı tüm gruplardan iyi olarak bulundu. *NPHS1* mutasyonu olan kızların sağkalımı da erkeklerden iyiydi.

Hastaların sağkalımlarına bakıldığında bu çalışmada tüm hastalarda toplam 1 yıllık sağkalım oranı %50 olarak bulunurken, 2 yıllık sağkalım oranı %42'ydı. Yapılan bir çalışmada Batı Avrupa'lı hastaların çoğunlukta olduğu bir konjenital nefrotik sendrom kohortunda bir yıllık sağkalım oranı %79 olarak bulunmuştur (77). Aynı çalışmada hastaların %14'ünde böbrek dışı bulgular (en sık mikrosefali, mental retardasyon ve konjenital kalp hastalığı)

görülürken bizim çalışmamızda mutasyon saptanan tüm gruplara bakıldığında hastaların %41'inde böbrek dışı bulgular vardı ve en sık görülen bozukluk konjenital kalp hastalıklarıydı (%14). Adı geçen çalışmada *WT1* mutasyonu olan bazı hastalarda genital, *LAMB2* mutasyonu olan hastalarda da göz anomalileri tıpkı bizim çalışmamızda olduğu gibi gösterilmişti (77). Böbrek dışı bulguların bizim hastalarımızda daha sık görülmesinin nedeni yüksek akraba evliliği oranı ile açıklanabilir. Bizim hastalarımızdaki sağkalımın önceki çalışmaya göre düşük olmasının bir sebebi böbrek dışı bulguların bizim hastalarımızda daha sık görülmesi olabilir. Bir diğer açıklama da hastaların sağlık hizmetine erişimlerinin ve ülkemizdeki özellikle bazı bölgelerdeki sağlık hizmeti kalitesinin Batı Avrupa ülkelerinden düşük olması olabilir. Örneğin önceki bir çalışmada (77) konjenital nefrotik sendrom hastalarının %13'üne preemtif nefrektomi uygulanmışken bizim çalışmamızda hiçbir hastaya uygulanmamıştı. İspanya'da yapılan bir çalışmada Fin Tipi Konjenital Nefrotik Sendrom hastalarının %91.7'sine albumin tedavisi uygulandığı görülmüştür (91), bizim çalışmamızda ise en yüksek tedavi uygulanan grup olan NPHS1 grubunda sadece hastaların %60'ına albumin tedavisi uygulandığı görülmüştür, bu oran diğer gruplarda daha da düşük bulunmuştur (NPHS2 ve *WT1* gruplarında %13, *LAMB2* grubunda %0). Tüm bu bulgular bir arada değerlendirildiğinde hem eşlik eden böbrek dışı bulguların daha sık görülmesi hem de olasılıkla destekleyici tedavinin yeterli uygulanamaması bizim hastalarımızda sağkalımın gelişmiş ülkelere göre düşük bulunmasını açıklayabilir.

Hastalara uygulanan tedavilere bakıldığında NPHS2 ve *WT1* grubunda önemli oranda hastaya immünosupresif tedavi uygulandığı görülmüştür. Ortalama hastalık başlangıç yaşı en düşük olan NPHS1 grubunda ise hastaların çok az bir kısmına (%8) steroid tedavisi uygulanmış, diğer immünosupresifler ise hiçbir hastaya uygulanmamıştır. Bu durum hastalık başlangıç yaşındaki farklılıklar ile açıklanabilir. Hastalığın çoğunlukla yenidoğan döneminde başladığı NPHS1 grubunda hekimler tarafından olasılıkla genetik bozukluk olabileceği daha erken düşünülmüş ve bu nedenle immünosupresif tedavi çoğu hastaya verilmemiş olabilir. NPHS2 ve *WT1*

gruplarında ise immünosupresif tedavi önemli oranda hastaya verilmesi bu hastalarda hastalığın görece daha geç başlamış olması nedeniyle hekimler tarafından genetik bir bozukluktan ziyade minimal değişiklik hastalığı ön planda düşünülerek bu hastalara immünosupresif tedavi verilmiş olması ile açıklanabilir. Hastalığın çoğunlukla yenidoğan döneminde başladığı ve ağır ödem ile birlikte derin hipoalbumineminin (ortalama 1.1 g/dL) görüldüğü NPHS1 grubunda albumin tedavisi verilme oranı en yüksek olmuştur. Ödemin daha az oranda saptandığı ve hipoalbumineminin görece daha hafif olduğu (~2.0 g/dL) NPHS2 ve WT1 gruplarında albumin tedavisi verilme oranı çok daha düşük bulunmuştur. Bu bulgu hekimlerin albumin tedavisi verme kararlarını ödem ve hipoalbumineminin derinliğinin etkilediğini düşündürmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Konjenital ve infantil nefrotik sendrom hastalarının 2/3'ünde *NPHS1*, *NPHS2*, *WT1* ve *LAMB2* genlerinin birisinde hastalığa neden olan mutasyonlar bulunmaktadır. Bu 4 genden birisinde mutasyon saptama oranı konjenital nefrotik sendrom hastalarında infantil nefrotik sendrom hastalarına göre iki kat daha yüksektir. Türk toplumunda en sık mutasyon saptanan gen *NPHS1*'dir. *NPHS2* mutasyonu saptanan hastalarda sağkalım diğer genlerde mutasyon saptanan hastalara göre daha iyidir. *NPHS1* mutasyonu saptanan kızlarda sağkalım erkeklere göre daha iyidir. *NPHS1* geninde proteinin ekstraselüler bölgesini ilgilendiren mutasyonlara sahip hastalarda sağkalım proteinin diğer bölgelerini ilgilendiren mutasyonlara sahip hastalara göre daha kötüdür.

Bu çalışmada ilk kez tanımlanan 15 mutasyonun hastalığa neden olduğunun kesin olarak gösterilmesi için fonksiyonel çalışmalar yapılabilir. Hastaların renal sağkalım verileri elde edilebilirse genetik bozukluklar ile böbrek hastalığının seyri arasında daha sağlıklı bir ilişki kurulabilir. Nefrotik sendroma neden olduğu bilinen diğer genlerde de (*PLCE1*, *TRPC6*, *ACTN4*, *CD2AP* gibi) mutasyon taraması yapılması bu çalışmada mutasyon saptanmayan hastaların bir kısmında daha genetik nedenleri ortaya çıkarabilir. Ayrıca diğer genlerde de mutasyon saptanmayan hastalar nefrotik sendroma neden olan fakat henüz bilinmeyen genlerin aydınlatılmasına yardımcı olabilir.

KAYNAKLAR

1. Eddy AA, Symons JM. (2003) Nephrotic syndrome in childhood. *The Lancet*, 362 (9384), 629-639.
2. Benoit G, Machuca E, Antignac C. (2010) Hereditary nephrotic syndrome: a systematic approach for genetic testing and a review of associated podocyte gene mutations. *Pediatric Nephrology*, 25 (9), 1621-1632.
3. Cattran DC, Rao P. (1998) Long-term outcome in children and adults with classic focal segmental glomerulosclerosis. *American Journal of Kidney Diseases*, 32 (1), 72-79.
4. Mekahli D, Liutkus A, Ranchin B, Yu A, Bessenay L, Girardin E ve diğerleri. (2009) Long-term outcome of idiopathic steroid-resistant nephrotic syndrome: a multicenter study. *Pediatric Nephrology*, 24 (8), 1525-1532.
5. Machuca E, Benoit G, Antignac C. (2009) Genetics of nephrotic syndrome: connecting molecular genetics to podocyte physiology. *Human Molecular Genetics*, 18 (R2), R185-R194.
6. Jalanko H. (2009) Congenital nephrotic syndrome. *Pediatric Nephrology*, 24 (11), 2121-2128.
7. Hinkes BG, Mucha B, Vlangos CN, Gbadegesin R, Liu J, Hasselbacher K ve diğerleri. (2007) Nephrotic Syndrome in the First Year of Life: Two Thirds of Cases Are Caused by Mutations in 4 Genes (NPHS1, NPHS2, WT1, and LAMB2). *Pediatrics*, 119 (4), e907-e919.
8. Zenker M, Machuca E, Antignac C. (2009) Genetics of nephrotic syndrome: new insights into molecules acting at the glomerular filtration barrier. *Journal of Molecular Medicine*, 87 (9), 849-857.
9. Jarad G, Miner JH. (2009) Update on the glomerular filtration barrier. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 18(3), 226-232
10. Benzing T. (2004) Signaling at the Slit Diaphragm. *Journal of the American Society of Nephrology*, 15 (6), 1382-1391.
11. Greenbaum LA, Benndorf R, Smoyer WE. (2012) Childhood nephrotic syndrome—current and future therapies. *Nat Rev Nephrol*, 8, 445-458.
12. Gipson DS, Massengill SF, Yao L, Nagaraj S, Smoyer WE, Mahan JD ve diğerleri. (2009) Management of Childhood Onset Nephrotic Syndrome. *Pediatrics*, 124 (2), 747-757.
13. Lombel R, Gipson D, Hodson E. (2013) Treatment of steroid-sensitive nephrotic syndrome: new guidelines from KDIGO. *Pediatric Nephrology*, 28 (3), 415-426.
14. Lombel R, Hodson E, Gipson D. (2013) Treatment of steroid-resistant nephrotic syndrome in children: new guidelines from KDIGO. *Pediatric Nephrology*, 28 (3), 409-414.
15. Antignac C. (2002) Genetic models: clues for understanding the pathogenesis of idiopathic nephrotic syndrome. *The Journal of Clinical Investigation*, 109 (4), 447-449.
16. Savin VJ, Sharma R, Lovell HB, Welling DJ. (1992) Measurement of albumin reflection coefficient with isolated rat glomeruli. *Journal of the American Society of Nephrology*, 3 (6), 1260-1269.
17. Savin VJ, Sharma R, Sharma M, McCarthy ET, Swan SK, Ellis E ve diğerleri. (1996) Circulating Factor Associated with Increased Glomerular Permeability to Albumin in Recurrent Focal Segmental Glomerulosclerosis. *New England Journal of Medicine*, 334 (14), 878-883.

18. Cong EH, Bizet AA, Boyer O, Woerner S, Gribouval O, Filhol E ve diğerleri. (2014) A Homozygous Missense Mutation in the Ciliary Gene TTC21B Causes Familial FSGS. *Journal of the American Society of Nephrology*.
19. Taskiran EZ, Korkmaz E, Gucer S, Kosukcu C, Kaymaz F, Koyunlar C ve diğerleri. (2014) Mutations in ANKS6 Cause a Nephronophthisis-Like Phenotype with ESRD. *Journal of the American Society of Nephrology*, 25 (8), 1653-1661.
20. Ozaltin F, Ibsirlioglu T, Taskiran EZ, Baydar DE, Kaymaz F, Buyukcelik M ve diğerleri. (2011) Disruption of PTPRO Causes Childhood-Onset Nephrotic Syndrome. *The American Journal of Human Genetics*, 89 (1), 139-147.
21. Gee HY, Ashraf S, Wan X, Vega-Warner V, Esteve-Rudd J, Lovric S ve diğerleri. (2014) Mutations in EMP2 Cause Childhood-Onset Nephrotic Syndrome. *The American Journal of Human Genetics*, 94 (6), 884-890.
22. Patrakka J, Kestila M, Wartiovaara J, Ruotsalainen V, Tissari P, Lenkkeri U ve diğerleri. (2000) Congenital nephrotic syndrome (NPHS1): Features resulting from different mutations in Finnish patients. *Kidney Int*, 58, 972–980.
23. Kari J, Montini G, Bockenhauer D, Brennan E, Rees L, Trompeter R ve diğerleri. (2014) Clinico-pathological correlations of congenital and infantile nephrotic syndrome over twenty years. *Pediatric Nephrology*, 1-8.
24. Gbadegesin RA, Winn MP, Smoyer WE. (2013) Genetic testing in nephrotic syndrome—challenges and opportunities. *Nature Reviews Nephrology*, 9, 179-184.
25. Patrakka J, Martin P, Salonen R, Kestilä M, Ruotsalainen V, Männikkö M ve diğerleri. (2002) Proteinuria and prenatal diagnosis of congenital nephrosis in fetal carriers of nephrin gene mutations. *The Lancet*, 359 (9317), 1575-1577.
26. Holmberg C, Antikainen M, Rönholm K, Ala-Houhala M, Jalanko H. (1995) Management of congenital nephrotic syndrome of the Finnish type. *Pediatric Nephrology*, 9 (1), 87-93.
27. Licht C, Eifinger F, Gharib M, Offner G, Michalk DV, Querfeld U. (2000) A stepwise approach to the treatment of early onset nephrotic syndrome. *Pediatric Nephrology*, 14 (12), 1077-1082.
28. Iglesias P, Díez JJ. (2009) Thyroid dysfunction and kidney disease. *European Journal of Endocrinology*, 160 (4), 503-515.
29. Kovacevic L, Reid CD, Rigden SA. (2003) Management of congenital nephrotic syndrome. *Pediatric Nephrology*, 18 (5), 426-430.
30. Holmberg C, Jalanko H. (2014) Congenital nephrotic syndrome and recurrence of proteinuria after renal transplantation. *Pediatric Nephrology* (yayın tarihi: 29 Mart 2014)
31. Kuusniemi AM, Qvist E, Sun Y, Patrakka J, Rönholm K, Karikoski R ve diğerleri. (2007) Plasma Exchange and Retransplantation in Recurrent Nephrosis of Patients With Congenital Nephrotic Syndrome of the Finnish Type (NPHS1). *Transplantation*, 83 (10), 1316-1323
32. Benfield MR, McDonald RA, Bartosh S, Ho PL, Harmon W. (2003) Changing trends in pediatric transplantation: 2001 Annual Report of the North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study. *Pediatric Transplantation*, 7 (4), 321-335.
33. Qvist E, Laine J, Rönholm K, Jalanko H, Leijala M, Holmberg C. (1999) Graft Function 5-7 Years After Renal Transplantation In Early Childhood. *Transplantation*, 67 (7), 1043-1049.
34. Feinstein EI, Chesney RW, Zelikovic I. (1988) Peritonitis in childhood renal disease. *Am J Nephrol*, 8, 147–165.
35. Patiroglu T, Melikoglu A, Dusunsel R. (1998) Serum levels of C3 and factors I and B in minimal change disease. *Acta Paediatr Jpn*, 40, 333–336.

36. Overturf GD. (2000) Technical Report: Prevention of Pneumococcal Infections, Including the Use of Pneumococcal Conjugate and Polysaccharide Vaccines and Antibiotic Prophylaxis. *Pediatrics*, 106 (2), 367-376.
37. Tain YL, Lin GJ, Cher TW. (1999) Microbiological spectrum of septicemia and peritonitis in nephrotic children. *Pediatric Nephrology*, 13 (9), 835-837.
38. Goldstein SL, Somers MJG, Lande MB, Brewer ED, Jabs KL. (2000) Acyclovir prophylaxis of varicella in children with renal disease receiving steroids. *Pediatric Nephrology*, 14 (4), 305-308.
39. Quien RM, Kaiser BA, Deforest A, Polinsky MS, Fisher M, Baluarte HJ. (1997) Response to the varicella vaccine in children with nephrotic syndrome. *J Pediatr*, 131, 688-690.
40. Citak A, Emre S, Sâirin A, Bilge I, Nayır A. (2000) Hemostatic problems and thromboembolic complications in nephrotic children. *Pediatric Nephrology*, 14 (2), 138-142.
41. Andrew M, Michelson AD, Bovill E, Leaker M, Massicotte MP. (1998) Guidelines for antithrombotic therapy in pediatric patients. *The Journal of pediatrics*, 132 (4), 575-588.
42. Silva JMP, Oliveira EA, Marino VSP, Oliveira JS, Torres RM, Ribeiro ALP ve diğerleri. (2002) Premature acute myocardial infarction in a child with nephrotic syndrome. *Pediatric Nephrology*, 17 (3), 169-172.
43. Querfeld U. (1999) Should hyperlipidemia in children with the nephrotic syndrome be treated? *Pediatric Nephrology*, 13 (1), 77-84.
44. Sanjad SA, Al-Abbad A, Al-Shorafa S. (1997) Management of hyperlipidemia in children with refractory nephrotic syndrome: The effect of statin therapy. *The Journal of pediatrics*, 130 (3), 470-474.
45. Ruotsalainen V, Ljungberg P, Wartiovaara J, Lenkkeri U, Kestilä M, Jalanko H ve diğerleri. (1999) Nephricin is specifically located at the slit diaphragm of glomerular podocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96 (14), 7962-7967.
46. Wartiovaara J, Ofverstedt LG, Khoshnoodi J, Zhang J, Makela E, Sandin S ve diğerleri. (2004) Nephricin strands contribute to a porous slit diaphragm scaffold as revealed by electron tomography. *The Journal of Clinical Investigation*, 114 (10), 1475-1483.
47. Patrakka J, Tryggvason K. (2007) Nephricin – a unique structural and signaling protein of the kidney filter. *Trends in Molecular Medicine*, 13 (9), 396-403.
48. Kestilä M, Lenkkeri U, Männikkö M, Lamerdin J, McCready P, Putaala H ve diğerleri. (1998) Positionally Cloned Gene for a Novel Glomerular Protein—Nephricin—Is Mutated in Congenital Nephrotic Syndrome. *Molecular Cell*, 1 (4), 575-582.
49. Ismaili K, Wissing K, Janssen F, Hall M. (2009) Genetic forms of nephrotic syndrome: a single-center experience in Brussels. *Pediatric Nephrology*, 24 (2), 287-294.
50. Huttunen NP. (1976) Congenital nephrotic syndrome of Finnish type. Study of 75 patients. *Arch Dis Child*, 51, 344-348.
51. Lenkkeri U, Männikkö M, McCready P, Lamerdin J, Gribouval O, Niaudet P ve diğerleri. (1999) Structure of the Gene for Congenital Nephrotic Syndrome of the Finnish Type (NPHS1) and Characterization of Mutations. *The American Journal of Human Genetics*, 64 (1), 51-61.
52. Koziell A, Grech V, Hussain S, Lee G, Lenkkeri U, Tryggvason K ve diğerleri. (2002) Genotype/phenotype correlations of NPHS1 and NPHS2 mutations in nephrotic syndrome advocate a functional inter-relationship in glomerular filtration. *Human Molecular Genetics*, 11 (4), 379-388.
53. Philippe A, Nevo F, Esquivel EL, Reklaityte D, Gribouval O, Tête MJ ve diğerleri. (2008) Nephricin Mutations Can Cause Childhood-Onset Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome. *Journal of the American Society of Nephrology*, 19 (10), 1871-1878.

- 54.Santin S, Garcia-Maset R, Ruiz P, Gimenez I, Zamora I, Pena A ve diğerleri. (2009) Nephtrin mutations cause childhood- and adult-onset focal segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int*, 76, 1268–1276.
- 55.Shono A, Tsukaguchi H, Yaoita E, Nameta M, Kurihara H, Qin XS ve diğerleri. (2007) Podocin Participates in the Assembly of Tight Junctions between Foot Processes in Nephrotic Podocytes. *Journal of the American Society of Nephrology*, 18 (9), 2525-2533.
- 56.Huber TB, Schermer B, Benzing T. (2007) Podocin Organizes Ion Channel-Lipid Supercomplexes: Implications for Mechanosensation at the Slit Diaphragm. *Nephron Experimental Nephrology*, 106 (2), e27-e31.
- 57.Huber TB, Köttgen M, Schilling B, Walz G, Benzing T. (2001) Interaction with Podocin Facilitates Nephtrin Signaling. *Journal of Biological Chemistry*, 276 (45), 41543-41546.
- 58.Li H, Lemay S, Aoudjit L, Kawachi H, Takano T. (2004) Src-Family Kinase Fyn Phosphorylates the Cytoplasmic Domain of Nephtrin and Modulates Its Interaction with Podocin. *Journal of the American Society of Nephrology*, 15 (12), 3006-3015.
- 59.Huber TB, Simons M, Hartleben B, Sernetz L, Schmidts M, Gundlach E ve diğerleri. (2003) Molecular basis of the functional podocin–nephtrin complex: mutations in the NPHS2 gene disrupt nephtrin targeting to lipid raft microdomains. *Human Molecular Genetics*, 12 (24), 3397-3405.
- 60.Boute N, Gribouval O, Roselli S, Benessy F, Lee H, Fuchshuber A ve diğerleri. (2000) NPHS2, encoding the glomerular protein podocin, is mutated in autosomal recessive steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nature Genetics*, 24, 349-354.
- 61.Tsukaguchi H, Sudhakar A, Le TC, Nguyen T, Yao J, Schwimmer JA ve diğerleri. (2002) NPHS2 mutations in late-onset focal segmental glomerulosclerosis: R229Q is a common disease-associated allele. *The Journal of Clinical Investigation*, 110 (11), 1659-1666.
- 62.Ruf RG, Lichtenberger A, Karle SM, Haas JP, Anacleto FE, Schultheiss M ve diğerleri. (2004) Patients with Mutations in NPHS2 (Podocin) Do Not Respond to Standard Steroid Treatment of Nephrotic Syndrome. *Journal of the American Society of Nephrology*, 15 (3), 722-732.
- 63.Guo G, Morrison DJ, Licht JD, Quaggin SE. (2004) WT1 Activates a Glomerular-Specific Enhancer Identified from the Human Nephtrin Gene. *Journal of the American Society of Nephrology*, 15 (11), 2851-2856.
- 64.Mucha B, Ozaltin F, Hinkes BG, Hasselbacher K, Ruf RG, Schultheiss M ve diğerleri. (2006) Mutations in the Wilms' Tumor 1 Gene Cause Isolated Steroid Resistant Nephrotic Syndrome and Occur in Exons 8 and 9. *Nature Genetics*, 38, 325–331.
- 65.Coulthard MG, Sharp J. (2001) Haemodialysing infants: theoretical limitations, and single versus double lumen lines. *Pediatric Nephrology*, 16 (4), 332-334.
- 66.Jeanpierre C, Denamur E, Henry I, Cabanis MO, Luce S, Cécille A ve diğerleri. (1998) Identification of Constitutional WT1 Mutations, in Patients with Isolated Diffuse Mesangial Sclerosis, and Analysis of Genotype/Phenotype Correlations by Use of a Computerized Mutation Database. *The American Journal of Human Genetics*, 62 (4), 824-833.
- 67.Klamt B, Koziell A, Poulat F, Wieacker P, Scambler P, Berta P ve diğerleri. (1998) Frasier Syndrome is Caused by Defective Alternative Splicing of WT1 Leading to an Altered Ratio of WT1 +/-KTS Splice Isoforms. *Human Molecular Genetics*, 7 (4), 709-714.
- 68.Ruf RG, Schultheiss M, Lichtenberger A, Karle SM, Zalewski I, Mucha B ve diğerleri. (2004) Prevalence of WT1 mutations in a large cohort of patients with steroid-

- resistant and steroid-sensitive nephrotic syndrome. *Kidney International*, 66, 564-570.
- 69.Royer-Pokora B, Beier M, Henzler M, Alam R, Schumacher V, Weirich A ve diğerleri. (2004) Twenty-four new cases of WT1 germline mutations and review of the literature: Genotype/phenotype correlations for Wilms tumor development. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 127A (3), 249-257.
- 70.Zenker M, Aigner T, Wendler O, Tralau T, Müntefering H, Fenski R ve diğerleri. (2004) Human laminin β 2 deficiency causes congenital nephrosis with mesangial sclerosis and distinct eye abnormalities. *Human Molecular Genetics*, 13 (21), 2625-2632.
- 71.Hasselbacher K, Wiggins RC, Matejas V, Hinkes BG, Mucha B, Hoskins BE ve diğerleri. (2006) Recessive missense mutations in LAMB2 expand the clinical spectrum of LAMB2-associated disorders. *Kidney International*, 70, 1008–1012.
- 72.Pelletier J, Bruening W, Kashtan CE, Mauer SM, Manivel JC, Striegel JE ve diğerleri. (1991) Germline mutations in the Wilms' tumor suppressor gene are associated with abnormal urogenital development in Denys-Drash syndrome. *Cell*, 67 (2), 437-447.
- 73.Heeringa SF, Vlangos CN, Chernin G, Hinkes B, Gbadegesin R, Liu J ve diğerleri. (2008) Thirteen novel NPHS1 mutations in a large cohort of children with congenital nephrotic syndrome. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 23 (11), 3527-3533.
- 74.Schoeb DS, Chernin G, Heeringa SF, Matejas V, Held S, Vega-Warner V ve diğerleri. (2010) Nineteen novel NPHS1 mutations in a worldwide cohort of patients with congenital nephrotic syndrome (CNS). *Nephrology Dialysis Transplantation*, 25 (9), 2970-2976.
- 75.Beltcheva O, Martin P, Lenkkeri U, Tryggvason K. (2001) Mutation spectrum in the nephrin gene (NPHS1) in congenital nephrotic syndrome. *Human Mutation*, 17 (5), 368-373.
- 76.Gigante M, Monno F, Roberto R, Laforgia N, Assael MB, Livolti S ve diğerleri. (2002) Congenital nephrotic syndrome of the Finnish type in Italy: a molecular approach. *J Nephrol*, 15, 696-702.
- 77.Machuca E, Benoit G, Nevo F, Tête MJ, Gribouval O, Pawtowski A ve diğerleri. (2010) Genotype–Phenotype Correlations in Non-Finnish Congenital Nephrotic Syndrome. *Journal of the American Society of Nephrology*, 21 (7), 1209-1217.
- 78.Tikhomirov E, Averyanova N, Bayazutdinova G, Voznesenskaya T, Tsygin A. (2007) Novel human pathological mutations. *Human Genetics*, 122 (5), 545-559.
- 79.Weber S, Gribouval O, Esquivel EL, Moriniere V, Tete MJ, Legendre C ve diğerleri. (2004) NPHS2 mutation analysis shows genetic heterogeneity of steroid-resistant nephrotic syndrome and low post-transplant recurrence. *Kidney Int*, 66 (2), 571-579.
- 80.Caridi G, Bertelli R, Carrea A, Di Duca M, Catarsi P, Artero M ve diğerleri. (2001) Prevalence, Genetics, and Clinical Features of Patients Carrying Podocin Mutations in Steroid-Resistant Nonfamilial Focal Segmental Glomerulosclerosis. *Journal of the American Society of Nephrology*, 12 (12), 2742-2746.
- 81.Tonna SJ, Needham A, Polu K, Uscinski A, Appel GB, Falk RJ ve diğerleri. (2008) NPHS2 variation in focal and segmental glomerulosclerosis. *BMC Nephrol*, 9 (13).
- 82.Bouchireb K, Boyer O, Gribouval O, Nevo F, Huynh-Cong E, Morinière V ve diğerleri. (2014) NPHS2 Mutations in Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome: A Mutation Update and the Associated Phenotypic Spectrum. *Human Mutation*, 35 (2), 178-186.
- 83.Kikuchi H, Takata A, Akasaka Y, Fukuzawa R, Yoneyama H, Kurosawa Y ve diğerleri. (1998) Do intronic mutations affecting splicing of WT1 exon 9 cause Frasier syndrome? *J Med Genet*, 35, 45-48.

84. Chernin G, Vega-Warner V, Schoeb DS, Heeringa SF, Ovunc B, Saisawat P ve diğerleri. (2010) Genotype/Phenotype Correlation in Nephrotic Syndrome Caused by WT1 Mutations. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 5 (9), 1655-1662.
85. Aydın B, Ipek MS, Ozaltın F, Zenciroğlu A, Dilli D, Beken S ve diğerleri. (2013) A novel mutation of laminin β -2 gene in Pierson syndrome manifested with nephrotic syndrome in the early neonatal period. *Genet Couns*, 24, 141-147.
86. Santín S, Bullich G, Tazón-Vega B, García-Maset R, Giménez I, Silva I ve diğerleri. (2011) Clinical Utility of Genetic Testing in Children and Adults with Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 6 (5), 1139-1148.
87. Hinkes B, Vlangos C, Heeringa S, Mucha B, Gbadegesin R, Liu J ve diğerleri. (2008) Specific Podocin Mutations Correlate with Age of Onset in Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome. *Journal of the American Society of Nephrology*, 19 (2), 365-371.
88. Matejas V, Hinkes B, Alkandari F, Al-Gazali L, Annexstad E, Aytac MB ve diğerleri. (2010) Mutations in the human laminin β 2 (LAMB2) gene and the associated phenotypic spectrum. *Human Mutation*, 31 (9), 992-1002.
89. Tuncbilek E. (2001) Clinical outcomes of consanguineous marriages in Turkey. *Turk J Pediatr*, 43, 277-279.
90. Tuncbilek E, Koc I. (1994) Consanguineous marriage in Turkey and its impact on fertility and mortality. *Ann Hum Genet*, 58, 321-329.
91. Canalejo González D, González Rodríguez JD, Navas López VM, Sánchez-Moreno A, Fijo López-Viota J, Martín-Govantes J. (2006) Evaluation of therapeutic strategies in congenital nephrotic syndrome of the Finnish type. *An Pediatr (Barc)*, 65, 561-568.

EK-1: STANDART KLİNİK BİLGİ FORMU**STEROİDE DİRENÇLİ NEFROTİK SENDROM KLİNİK BİLGİ FORMU**

___/___/20__

Hasta Bilgileri	Kod No: _____ (Bu alanı doldurmayınız)	
Soyadı: _____	Adı: _____	Doğum Tarihi: ___/___/19___ (Gün/Ay/Yıl)
Boy: _____ (cm)	Vücut ağırlığı: _____ (kg)	
Cinsiyet: <input type="checkbox"/> E	<input type="checkbox"/> K	
Akrabalık: <input type="checkbox"/> Yok	<input type="checkbox"/> Var	Akrabalık Derecesi: _____
Kardeş sayısı (Hasta hariç):		
Aile ağacı:		

Başlangıç Klinik ve Laboratuvar Değerlendirme: ____/____/19__

1. Belirtiler

- Akut
 Reguler muayene sırasında
 Ödem (Hafif, Orta, Ağır)
 Yüksek kan basıncı
 Akut renal yetmezlik
 Kronik renal yetmezlik
 Diğer _____

2. Antropometri: Boy.....(cm), Vücut ağırlığı:(kg)

3. Laboratuvar Bulguları

- GFR: _____ml/dk/1.73
 Serum kreatinin: _____mg/dl
 Serum protein: _____g/dl
 Serum albumin: _____g/dl
 Kolesterol: _____mg/dl
 İmmunolojik tetkikler:
 C3:.....(mg/dl); IgG:.....(mg/dl)
- İdrar tetkiki:
 Proteinüri: _____mg/gün (mg/m²/gün)
 Spot proteinüri: _____mg/mg kreatinin
 Spot albüminüri: _____mg/mg kreatinin
 Kalitatif tayin: Negatif + ++ +++ ++++
 Hematüri: var yok

3. Böbrek Biyopsisi: ____/____/19__

Işık miroskopi , İmmunfloresan mikroskopi , Elektron mikroskopi

Toplam glomerül sayısı:.....; Sklerotik glomerül sayısı:.....

Tanı: Minimal lezyon ; Mezangioproliferatif GN;
 FSGS (Tip lezyon, Collapsing, Hilar)
 Global glomerulosklerozis
 Diffüz mezangial sklerozis
 Diğer

Açıklama:

Böbrek Dışı Bulgular

- Sağırılık
- Körlük/Görme zayıflığı
- Mikrosefali
- Mental retardasyon
- Boy kısalığı
- Fasiyal şekil bozukluğu
- Polidaktili
- Spondiloepifizyal displazi (Schimke sendromu)
- Nail-patella sendromu
- Üriner/genital sistem anomalileri
- Erkek psödohermafrotizm (Denys Drash sendromu, Frasier sendromu)
- Kalp anomalileri
- Alerji
- Miyopati
- Kardiyomyopati
- Sinir sistemi anomalileri/Felç
- Diyabetes mellitus
- Malignite
- Otoimmün bozukluk
- Hepatit B
- Hepatit C
- HIV
- Konjenital CMV
- Diğer TORC enfeksiyonları
- Diğer _____

Aile öyküsü

Akrabalarda Nefrotik Sendrom Anne Baba Erkek kardeş Kız kardeş
 Diğer _____

Akrabalarda Glomerular Hastalıklar (Lütfen hangi akrabalarda olduğunu yanına belirtiniz)

- Proteinüri
 NS
 KBY
 ESBY

Akrabalarda Glomerular hastalık varsa;

Hastalık başlangıç yaşı: _____

Başlangıç Klinik ve Laboratuvar Değerlendirme:

- Düşük proteinüri
 Yüksek proteinüri ($> 1\text{g}/\text{m}^2/\text{gün}$)
 NS
 KBY
 SDBY
 Diğer _____

Şu anki durumu:

- Düşük proteinüri
 Yüksek proteinüri ($> 1\text{g}/\text{m}^2/\text{gün}$)
 NS
 KBY
 Diyaliz Diyaliz yaşı _____
 Transplantasyon ESBY yaşı _____
 Transplantasyondan sonra hastalık tekrarladı mı? Evet/ Hayır/ Bilinmiyor

Babanın doğum yeri: _____

Annenin doğum yeri: _____

Telefon numarası: (0 _____) _____

Adres: _____

Lütfen pedigrî üzerinde etkilenmiş bireyleri üzerinde gösteriniz.

Oral Tedavi**Tedaviye başlarken**

Vücut ağırlığı: _____ kg Boyu: _____ cm
 Serum albumin: _____ g/dl
 Ortalama proteinüri: _____ mg/gün (mg/m²/gün)
 Spot proteinüri: _____ mg/mg kreatinin
 Spot albüminüri: _____ mg/mg kreatinin
 Kalitatif tayin: Negatif + ++ +++ ++++

Kortikosteroidler Evet Hayır

Doz : _____

Başlangıç tarihi : _____

Kesildiği tarih: _____

Tedaviye yanıt: Tam remisyon Parsiyel remisyon Dirençli

Sitotoksik Tedavi Evet Hayır

İlaç adı: _____

Doz : _____

Başlangıç tarihi : _____

Kesildiği tarih: _____

Tedaviye yanıt: Tam remisyon Parsiyel remisyon Dirençli

Siklosporin Evet Hayır

Doz : _____

Başlangıç tarihi : _____

Kesildiği tarih: _____

Tedaviye yanıt: Tam remisyon Parsiyel remisyon Dirençli

Diğer immünsüpresifler Evet Hayır

İlaç Adı: _____

Doz : _____

Başlangıç tarihi : _____

Kesildiği tarih: _____

Tedaviye yanıt: Tam Parsiyel Relaps

Damar Yoluyla Tedavi**Tedaviye başlarken**

Vücut ağırlığı: _____ kg Boyu: _____ cm
 Serum albumin: _____ g/dl
 Ortalama proteinüri: _____ mg/gün (mg/m²/gün)
 Spot proteinüri: _____ mg/mg kreatinin
 Spot albüminüri: _____ mg/mg kreatinin
 Kalitatif tayin: Negatif + ++ +++ ++++

Prednisone pulses

Uygulama sayısı: _____
 İlk uygulama(gün/ay/yıl): _____
 Son uygulama(gün/ay/yıl): _____
 Günlük doz: _____

Dexamethasone pulses

Uygulama sayısı: _____
 İlk uygulama(gün/ay/yıl): _____
 Son uygulama(gün/ay/yıl): _____
 Günlük doz: _____

Cyclophosphamide pulses

Uygulama sayısı: _____
 İlk uygulama(gün/ay/yıl): _____
 Son uygulama(gün/ay/yıl): _____
 Günlük doz: _____

Rituximab infusions

Uygulama sayısı: _____
 İlk uygulama(gün/ay/yıl): _____
 Son uygulama(gün/ay/yıl): _____
 Günlük doz: _____

İlaçla tedaviden kaynaklandığı düşünülen yan etkiler

- Kilo alımı
- Hipertansiyon
- Kemik ağrısı
- Radyolojik osteopenia/Kırıklar
- Yaygın enfeksiyonlar
- Ağır enfeksiyonlar Evet ise: _____
- Mizaç bozuklukları
- Katarakt
- Lökopeni
- Anemi
- Saç dökülmesi
- Anormal kıllanma
- Dişeti hiperplazi

Diyaliz /Renal Transplantasyon

İzlem süresi _____ ay

Kronik Böbrek Yetmezliği Tarihi: ____/____/19__

Renal transplantasyon Tarihi : ____/____/19__ Son GFR (ml/dk/1.73m²):**Düşünce ve Yorumlar:****İletişim Bilgileri:****Doktorunun adı soyadı:****Adres:**