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

NEFROTİK SENDROM OLUŞTURULAN SIÇANLARDA RESVERATROL VE METFORMİN TEDAVİLERİNİN BÖBREK DOKUSUNDAKİ NUKLEOPORİN VE ENDOPLAZMİK RETİKULUM STRES PROTEİNLERİNE ETKİLERİ

Dr. Tanju METERİS

UZMANLIK TEZİ

BURSA-2024

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

NEFROTİK SENDROM OLUŞTURULAN SIÇANLARDA RESVERATROL VE METFORMİN TEDAVİLERİNİN BÖBREK DOKUSUNDAKİ NUKLEOPORİN VE ENDOPLAZMİK RETİKULUM STRES PROTEİNLERİNE ETKİLERİ

Dr. Tanju METERİS

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Bilal YILDIZ

BURSA-2024

İÇİNDEKİLER

ÖZET ii
İNGİLİZCE ÖZET iv
GİRİŞ VE AMAÇ 1
GENEL BİLGİLER 5
GEREÇ VE YÖNTEM 78
BULGULAR 83
TARTIŞMA 116
KAYNAKLAR 137
EKLER 165
Ek 1- Kısaltmalar 165
Ek 2-Şekil Dizini 167
Ek 3-Tablo Dizini 169
TEŞEKKÜR 170
ÖZGEÇMİŞ 171

ÖZET

Nükleoporinlerin ve endoplazmik retikulum stresinin nefrotik sendromun patogenezinde kritik rol oynadığı iddia edilmiştir. Ancak nefrotik sendromda nükleoporinler ve endoplazmik retikulum stres proteinlerinin böbrek dokusundaki düzeyleri, ilişkileri ve bunları hedef alan tedaviler hakkında yeterli veri yoktur.

İntraperitoneal adriamisin uygulanan ve nefrotik sendrom gelişen sıçanlara oral metformin ve resveratrol tedavisi uygulandı. Böbrek dokusu NUP-93, NUP-107, IRE-1, ATF-6, kaspaz-12 ve kaspaz-3 düzeyleri ve bunların resveratrol ve metformin tedavisine yanıtları ELISA ile ölçüldü.

Nefrotik sıçanlarda tedavi edilmemiş ve resveratrol ve metformin ile tedavi edilmiş böbrek dokusu NUP-93, NUP-107, IRE-1 ve kaspaz-12 seviyeleri, kontrollere kıyasla arttı. Tedavi edilmemiş ve resveratrol ile tedavi edilen nefrotik sıçanlarda böbrek dokusu NUP-93 ve IRE-1 seviyeleri artarken, metformin ile tedavi edilenlerde kontrollerle benzerdi. Serum albumin ile NUP-107, NUP-93, IRE-1, kaspaz-12 ve hasar skorları arasında negatif korelasyonlar vardı. Deneyde NUP107, NUP93, IRE-1 ve kaspaz 12 seviyeleri arttıkça hasar skorları kötüleşti. Resveratrol ve metformin, glomerüler hasarı azaltmada etkili olurken, tübüler hasarı azaltamadı. İnterstisyel hasar ise sadece metformin ile azaldı.

Sonuç olarak, böbrek kaspaz 12 ve IRE-1 seviyeleri yüksek olmasına rağmen kaspaz-3 seviyelerinin kontrollerle benzer bulunması, nefrotik sendromda endoplazmik retikulum stresi kaynaklı apoptozun meydana gelmediğini düşündürmektedir. Metformin, IRE1 ve NUP-93 yoluyla ERS ve nükleoporinleri azaltarak, bu iki mekanizmanın nefrotik sendrom üzerindeki olumsuz etkilerini azaltabilir ve böylece serum albümin düzeylerinin artmasına katkıda bulunabilir. Metformin ile glomerüler ve interstisyel hasarın düzeltilmesi, böbrek NUP-93 ve IRE-1 seviyelerinin azaltılması yoluyla gerçekleşmiş olabilir. Nükleoporinleri ve endoplazmik retikulum stresini kontrol

etmek ve/veya hedef almak suretiyle nefrotik sendromdaki değişiklikleri göstermek için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: NUP-93, NUP-107, IRE-1, ATF-6, kaspaz-12

SUMMARY

Effects of Resveratrol and Metformin Treatments on Nucleoporin and Endoplasmic Reticulum Stress Proteins in Kidney Tissue of Rats with Induced Nephrotic Syndrome

Nucleoporins and endoplasmic reticulum stress (ERS) are suggested to play a critical role in the pathogenesis of nephrotic syndrome. However, there is insufficient data regarding the levels of nucleoporins and ERS proteins in kidney tissue, their relationships, and targeted therapies for nephrotic syndrome.

Rats induced with nephrotic syndrome by intraperitoneal adriamycin were treated with oral metformin and resveratrol. Kidney tissue levels of NUP-93, NUP-107, IRE-1, ATF-6, caspase-12, and caspase-3, as well as their responses to resveratrol and metformin treatments, were measured by ELISA.

In nephrotic rats, untreated and those treated with resveratrol and metformin showed increased levels of NUP-93, NUP-107, IRE-1, and caspase-12 in kidney tissue compared to controls. While NUP-93 and IRE-1 levels were increased in untreated and resveratrol-treated nephrotic rats, they were similar to controls in metformin-treated rats. Negative correlations were observed between serum albumin and levels of NUP-107, NUP-93, IRE-1, caspase-12, and damage scores. As NUP-107, NUP-93, IRE-1, and caspase-12 levels increased, damage scores worsened. Resveratrol and metformin were effective in reducing glomerular damage but not tubular damage, while interstitial damage was reduced only by metformin.

In conclusion, despite high levels of caspase-12 and IRE-1, similar levels of caspase-3 to controls suggest that ERS-induced apoptosis does not occur in nephrotic syndrome. Metformin may mitigate the adverse effects of these mechanisms on nephrotic syndrome and contribute to increased serum albumin levels by reducing ERS and nucleoporins via IRE-1 and NUP-93.

Further studies are needed to elucidate changes in nephrotic syndrome by targeting and/or controlling nucleoporins and ERS.

Keywords: NUP-93, NUP-107, IRE-1, ATF-6, caspase-12

GİRİŞ VE AMAÇ

Nefrotik sendrom (NS), glomerüler filtrasyon bariyerinde geçirgenliğin artmasına bağlı olarak gelişen hipoalbüminemi proteinüri, ödem ve hiperlipidemi ile karakterize klinik bir tablodur.

Nefrotik sendromun patofizyolojisini anlamak ve tedavi yöntemlerini geliştirmek amacıyla fare ve sıçanlarda deneysel NS modelleri oluşturulmaktadır. Bu modeller, immünolojik olayları incelemek, biyokimyasal ve histopatolojik değişiklikleri değerlendirmek ve yeni tedavi ilaçlarını test etmek için kullanılır (1). NS gelişiminde podositlerde hasar meydana gelir. Podositler, glomerüler filtrasyon bariyerinin önemli bir bileşenidir. Glomerüler bazal membranın dış yüzeyini örterler ve iç içe geçmiş ayaksı çıkıntılara sahiptirler. Bu hücreler, glomerüler seçiciliği düzenlemek, glomerüler kapillerlere yapısal destek sağlamak, mesangial hücrelerle işbirliği yaparak intrakapiller sıvı basıncına direnç oluşturmak ve glomerüler bazal membranın yeniden modellenmesine katılmak gibi çeşitli fonksiyonlara sahiptirler (2, 3).

Apoptozis, endoplazmik retikulum stresi ve nükleoprinler ile ilgili değişimlerin NS gelişmesine katkıda bulunan patogenez ilişkili mekanizmalar olduğu ileri sürülmektedir (4–6).

Apoptoz, artık ihtiyaç duyulmayan veya organizma için tehdit oluşturan hücrelerin ATP'ye bağımlı, enzim aracılı, genetik olarak programlanmış ölümüdür. Apoptoz, hücre iskeleti (proteazlar tarafından) ve DNA (endonükleazlar tarafından) parçalandığında ortaya çıkar. Her ikisine de kaspazlar aracılık eder (7, 8). Apoptoz, hücrenin kendi genlerinin aktivasyonu ya da çevreden gelen uyaranlarla başlamaktadır. Hücre dışı uyaranlar arasında; koloni uyarıcı faktörler (CSF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF), tümör nekroz faktörü (TNF), nöron büyüme faktörü (NGF), glukokortikoidler, IL–2 gibi maddelerin ortamda azalması, ilaçlar, radyasyon, çeşitli antijenler önemli yere sahiptir (9). Apoptozisin gerçekleşmesi, iki ana yolla meydana gelir: intrensek (mitokondrial) ve ekstrensek yol. İntrensek yolda, membran geçirgenliği bozulmuş mitokondrilerden sitokrom c salınır. Bu, Apaf-1 ve

başlatıcı kaspazlardan kaspaz-9 ile birleşerek apoptozom oluşumunu tetikler. Apoptozom başlangıçta inaktif olan prokaspaz-3 ile birleştikten sonra, prokaspaz-3 kaspaz-3'e dönüşerek aktifleşir ve sonuç olarak apoptoz gerçekleşir (10). Kaspaz 12, endoplazmik retikulum (ER) zarının dış yüzeyinde bulunan ve stres faktörleri ile aktive olan yıkıcı enzimdir (11). Kaspaz 12'nin aktivasyonu sonrasında kaspaz 12, sitoplazmaya salınır ve hücre ölümü zincirleme tepkisini başlatır. Bu zincirleme tepki, kaspaz 3 ve 7'nin aktivasyonu gibi aşamaları içerir. Kaspaz 12'nin tam olarak nasıl aktive olduğu henüz tam olarak anlaşılmamıştır (12). Yaptığımız çalışmada adriamisin ile oluşturulmuş nefrotik sendromda böbrek kaspaz 3 ve kaspaz 12 düzeyi ölçülmüş ve metformin ve resveratrol ile olan değişimleri incelenmiştir.

Ökaryotik hücrelerdeki en büyük organellerden biri olan endoplazmik retikulumun (ER), ana işlevleri şunlardır: hücre içi proteinlerin sentezi, proteinlerin modifikasyonu ve işlenmesi (13). ER, hücrede üretilen proteinlerin sentezinde, katlanmasında ve yapısal olgunlaşmasında önemli bir rol oynar (14). Memeli ER stres tepkisi dört mekanizmadan oluşur. Birincisi, katlanmamış proteinlerin daha fazla birikmesini önleyen protein sentezinin zayıflamasıdır. İkincisi, katlama kapasitesini arttırmak için ER şaperon genlerinin transkripsiyonel indüksiyonu, üçüncüsü ER ile ilişkili protein yıkım mekanizmasının yeteneğini arttırmak için ER ile ilişkili protein yıkım mekanizmasının bileşen genlerinin transkripsiyonel indüksiyonudur. Dördüncüsü, organizmanın hayatta kalmasını sağlamak için ER stresi nedeniyle zarar gören hücrelerin güvenli bir şekilde imha edilmesi için apoptozun indüklenmesidir (15). ER stresine maruz kalan hücreler, bu stresi azaltmak ve hücresel homeostazı yeniden sağlamak için katlanmamış protein yanıtı (UPR) yolağını aktive eder. UPR'de, üç ER yerleşimli transmembran protein aktive edilir. Bu üç sensör proteini şunlardır: inositol gerektiren enzim 1 (IRE-1), pankreatik endoplazmik retikulum eIF2 Kinaz (PERK) ve aktive edici transkripsiyon faktör (ATF6) (16). Katlanmamış proteinlerin birikmesine yanıt olarak bağlayıcı protein ATF6'dan ayrışır ve ATF6 veziküler taşıma yoluyla Golgi aygıtına taşınır. Golgi aygıtında ATF6, bölge 1 proteaz (S1P) ve bölge 2 proteaz (S2P) olarak adlandırılan proteazlar tarafından sırayla yarılır ve ortaya

çıkan ATF6'nın sitoplazmik kısmı çekirdeğe geçer. Çekirdekte ER stres tepki elementine (ERSE) bağlanır ve bağlayıcı protein ER şaperon genlerinin transkripsiyonunu aktive eder. Sonuç olarak bu proteinlerin sentezi artar ve ER katlama kapasitesi yükselerek strese karşı korunma sağlanmaya çalışılır (17). IRE1, ER membranında lokalize olan tip I transmembran bir endonükleazdır. IRE1'in luminal alanı katlanmamış proteinlerin algılanmasında rol oynar; sitoplazmik alan ise bir kinaz alanı ve bir RNaz alanı içerir (18). Çalışmamızda nefrotik sendrom oluşturulan sıçanlarda böbrek dokusundaki endoplazmik retikulum stres proteinlerinlerinden olan ATF 6 ve IRE 1 düzeyleri ölçerek resveratrol ve metformin tedavilerinin bu proteinlere olan etkilerini araştırdık.

Ökaryotik hücrelerde, nükleer gözenek kompleksi (NPC) nükleer zarf üzerinde bulunur ve sitoplazma ile çekirdek arasında taşıma için bir kanal görevi görür (19). Bir NPC üç alt kompleksten oluşur: NUP107/NUP160 kompleksi tarafından oluşturulan bir döngü, NUP93 kompleksi tarafından oluşturulan bir çekirdek yapı iskelesi ve NUP62 kompleksi tarafından oluşturulan bir içyapı (20). NUP93, moleküllerin çekirdek ve sitoplazma arasında aktif taşınmasında işlev gören nükleer gözenek kompleksinin kritik bir alt birimidir (21). NUP107 kompleksi NPC'nin merkezi yapısında bulunur. Son yıllarda NPC'ye olan ilgi, nükleositoplazmik taşımadaki rollerinin yanı sıra, gen ekspresyonunun düzenlenmesi, epigenetik ve heterokromatin düzenlemesi, DNA onarımı gibi diğer birçok hücresel süreçte yer alması nedeniyle giderek artmaktadır (22). NUP107, çocuklarda otozomal resesif steroid dirençli fokal segmental glomerüloskleroz (FSGS) ile ilişkilendirilmiştir (23).

Metformin, tip 2 DM'yi tedavi etmek için yaygın olarak kullanılan bir oral antihiperglisemik ilaçtır. 5′ Adenozin monofosfat-aktive Protein Kinaz (AMPK) aracılığıyla etki eder. Anti-diyabetik etkinliğinin yanında metforminin çeşitli böbrek hastalıklarında da olumlu etkilerinin olduğunu gösteren çalışmalar vardır (24). Akut böbrek hasarında metformin uygulmasının böbrek yetmezliği üzerine olumlu etkileri görülmüştür (25). Diyabetik böbrek hastalığı olan sıçanlarda uygulama, renal fonksiyonu önemli ölçüde iyileştirmiştir (26, 27). Resveratrol, stilben ailesine ait bir polifenoldür ve iki fenil bölgesini iki

karbon metilen köprüsü ile birleştiren ortak bir yapıya dayanır (28). Resveratrol, üzümde oldukça yüksek seviyelerde bulunur. Resveratrolün anti-oksidan, anti-enflamatuar, immünomodülatör, hepato-protektif, anti-kanser, anti-aterosklerotik ve anti-diyabetik özellikleri de dahil olmak üzere çok sayıda farmakolojik etkisi araştırılmıştır (29, 30).

GENEL BİLGİLER

1. Nefrotik Sendrom

1.1. Nefrotik Sendrom Tanımı

Nefrotik Sendrom glomerüler filtrasyon bariyer yapısının bozulması ile oluşan masif proteinüri (idrar protein düzeyinin >40 mg/m^2/saat veya spot idrar protein/kreatinin oranının >200 mg/mmol), hipoalbüminemi (serum albümin düzeyinin <2,5 g/dl) ve ödem ile birlikte olan, hipertrigliseridemi ve hiperkolesteroleminin de eşlik edebildiği klinik tablodur (31).

1.2. Nefrotik Sendrom Epidemiyolojisi

Çocuklarda görülen kronik hastalıklarından en önemlilerinden biri de Nefrotik sendromdur. Sağlıklı çocuklarda yıllık tahmini nefrotik sendrom (NS) insidansı, 18 yaşından küçük 100.000 çocukta yaklaşık olarak iki ila yedi vakadır. Daha küçük yaş gruplarında erkeklerle kızlar karşılaştırıldığında erkeklerde kızlara göre daha sık görülmektedir, ancak adölesan döneme bakıldığında cinsiyetler arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmektedir. Afro-Amerikan kökenli ve Hispanik popülasyon toplumlarında artmakta olan insidans ve daha şiddetli hastalıklar görülmektedir. Erkek çocuklarda kızlara göre yaklaşık olarak iki kat daha sık görülür. Adölesan ve erişkin dönemlere bakıldığında bu oran eşitlenir (31). Genellikle 2-6 yaşları arasında görülmektedir. Bir yaş altı, 9 yaş üstünde nadir görülür ve hasta çocukların aile bireylerinde NS görülme oranı yaklaşık %2-8' dir. Kardeşlerde NS öyküsü daha sıktır (32).

Çocukluk çağındaki NS insidansı dünya çapında değişkenlik göstermekle beraber 100.000' de 4,7'dir (33).

Avrupada yapılan birkaç çalışma sonucu, Güney Asyalı çocukların Avrupadaki popülasyondan daha yüksek NS insidansına sahip oldukları ortaya koymuştur. Ayrıca Afrikalı-Amerikalı çocuklarda NS görülme sıklığı ABD araştırmaları, Avrupa'daki çocuklara göre daha fazla olduğu göstermiştir (34).

1.3. Nefrotik Sendrom Klinik Sınıflandırılması ve Etiyoloji

Nefrotik sendrom bir hastalığa eşlik etmiyorsa primer (>%90), bir hastalığa bağlı ya da birlikte görülüyorsa sekonder olarak tanımlanmaktadır. Primer NS da; idiopatik NS ve konjenital NS olarak alt başlıklara ayrılmaktadır. Nefrotik sendrom birçok böbrek hastalığı ile ilişkili olabilir, çocukluk çağında en sık idiopatik olarak (>%90) görülür. Sekonder nedenler (%10) ve konjenital nefrotik sendrom (<%1) daha nadirdir (Tablo-1) (35).

Tablo -1: Nefrotik sendromun etyolojisi ve sınıflandırılması (36–39).

İdyopatik	• Minimal değişiklik hastalığı (MDH) • Fokal segmental glomerulosklerozis (FSGS) • Mesengial proliferatif glomerulonefritis • Membranoproliferatif glomerulonefritis • Membranöz nefropati (MN) • IgM nefropatisi • C1q nefropatisi
Genetik hastalıklar	• Podosin gen mutasyonuna bağlı otozomal resesif FSGS (NPHS2) • WT1 gen mutasyonuna bağlı otozomal dominant difüz mezengial skleroz (DMS) • α-aktinin 4 mutasyonuna bağlı otozomal dominant FSGS • CD2-bağlantılı protein gen defektine bağlı otozomal dominant FSGS (CD2AP) • Transient reseptör potansiyel katyon kanalı 6 gen defekti bağlantılı otozomal dominant FSGS (TRPC6)
Enfeksiyonlar	• Hepatit B ve C • İnsan immun yetmezlik virüsü • Malaria • Şistozomiyazis
Sistemik hastalıklar	• Henoch-Schönlein purpurası • Sistemic lupus eritematozus • Diabetes mellitus • Sarkoidozis
Metabolik hastalıklar	• Fabry hastalığı • Glutarik asidemi • Glucojen depo hastalığı • Mitokondrial sitopatiler
Hematolojik ve onkolojik hastalıklar	• Lösemi • Lenfoma • Sickle cell hastalığı
İlaçlar	• Nonsteroidal antiinflamatuar ilaçlar (NSAİİ) • Altın • Penisilamin • Anjiotensin konverting enzim inhibitörleri • Pamidronat • Interferon • Lityum
Diğer	• Arı sokması • İlaç allerjisi • Obesite • Gebelik

1.4. Nefrotik Sendrom Histolojik Sınıflandırılması

Glomerüler hastalığın kategorileri ışık mikroskopundaki bulgulara göre ayrılmaktadır. Bu ayrımı immunfloresan ve elektron mikroskopik incelemeleri destekler (Tablo-2) (37).

Tablo-2: Nefrotik sendrom histolojik sınıflama

Minimal Değişiklik Hastalığı (MDH)
Fokal Glomerülosklerozis (FGS) • Fokal Segmental Glomerülosklerozis (FSGS) • Fokal Global Glomerülosklerozis (FGGS)
Mezengial Proliferasyon (MezPGN) • Pür Diffüz Mezengial Proliferasyon • Sklerozan Glomerülonefritis
Membranoproliferatif Glomerülonefrit (MPGN) C3 glomerulopati (C3G) İmmun kompleks aracılı MPGN • Tip-I MPGN; Subendotelyal depolanma • Tip-II MPGN; İntramembranöz dens depozitler • Tip-III MPGN; Transmembranöz depolanma
Membranöz Glomerülonefrit (MGN)
Kronik Glomerülonefrit

1.4.1. Minimal Değişiklik Hastalığı (MDH):

Minimal değişiklik hastalığı, çocuklarda idiyopatik nefrotik sendromun en yaygın nedenlerinden biridir. Bir yaşından büyük nefrotik sendromlu çocukların %70 ila %90'ını oluştururur. MDH, steroidlere iyi yanıt veren ödem ve intravasküler hacim azalmasıyla sonuçlanan proteinüri için belirgindir (40). Çoğu çocuk steroid tedavisine yanıt verdiğinden hastalık “steroide duyarlı nefrotik sendrom” olarak adlandırılır. Steroide yanıt veren formlar kronik böbrek yetmezliğine doğru gelişmediğinden, steroid duyarlılığının tanımlanması prognoz için ilk kritik yönü temsil eder. MDH'de, diğer glomerüler hastalıkların aksine, steroid yanıt veriyorsa hastalık süreci genellikle

proteinürinin tamamen ortadan kalkmasıyla tamamlanır. MDH'de steroid direnci görülmedikçe böbrek biyopsisi yapılmaz. Çocuklarda başlangıç yaşının <1 veya >12 olması, gross hematüri, düşük serum C3 düzeyi, belirgin hipertansiyon, şiddetli hipovolemi olmaksızın böbrek yetmezliği ve steroid direnci durumlarında böbrek biopsisi yapılmalıdır (40).

1.4.2. Fokal Segmental Glomerülosklerozis (FSGS):

Fokal segmental glomerüler skleroz (FSGS), erişkinlerde vakaların %40'ını ve çocuklarda %20'sini oluşturan, sıklıkla karşılaşılan bir nefrotik sendrom nedenidir. FSGS'de, bazı glomerüller sklerozedir (fokal) ve ilgili her glomerulus sadece kısmen etkilenir (segmental) (41). FSGS genel olarak birincil (bilinen bir nedeni yok) veya ikincil olarak sınıflandırılabilir. İkincil FSGS'nin nedenleri arasında enfeksiyonlar, ilaçlar, böbrekteki hemodinamik adaptasyonlar ve genetik yer alır. Klinik bulgular düşündürücü olsa da, FSGS tanısının doğrulanması ancak histopatoloji bulguları ile sağlanır (42). Histolojik olarak glomerülün bir bölümünü tutan segmental skarlaşma ile karakterizedir. Örneklenen tüm glomerülleri değil, bazılarını etkiler. Son araştırmalar, protein kaybına ve ardından fokal sklerozan lezyonların gelişmesine yol açan podosit yaralanması ve hasarı olan FSGS'nin patogenezine ışık tutmuştur (43). Fokal segmental glomerüler sklerozun patogenezi, podositler, endotel hücreleri ve bazal membran dahil olmak üzere birkaç hücre tipinin karmaşık bir etkileşimini içerir. Podositler, glomerüle yapısal destek sağlayan terminal olarak farklılaşmış hücrelerdir ve nefrotik düzeydeki proteinüriyi önlemek için gerekli olan sağlam bir glomerüler filtrasyon bariyerinin korunmasında esastır. Podositlerin yaralanması ve kaybı, kalan podositlerin glomerüler kılcal yüzeyi kaplaması için podosit hipertrofisine neden olur. Bu durumda efasman ve protein kaybına neden olur (44, 45).

Glomerülosklerozis tanılı hastalar çeşitli immünosupresif ilaçlarla tedavi edilir. Hastaların çoğuna başlangıç tedavisi olarak kortikosteroid tedavisi başlanır. En yaygın ikinci basamak ajan kalsinörin inhibitörleridir. Diğer tedavi seçenekler arasında alkilleyici ajanlar, mikofenolat mofetil gibi anti-proliferatif ilaçlar ve rituksimab gibi biyolojik seçenekler vardır (46).

1.4.3. Mezengioproliferatif Glomerülonefrit (MezPGN):

Işık mikroskobu incelemesinde mezengiyal matriks ve mezengiyal hücrelerde belirgin artış söz konusudur. İmmünfloresan mikroskobundaki bulgular negatiftir. Elektron mikroskobunda podositlerin ayaksı çıkıntılarında MDH'dakine benzer şekilde silinme görülür. Diffüz mezengiyal proliferasyonu olan hastalarda steroid direnci insidansında artış mevcuttur (47).

1.4.4. Membranoproliferatif Glomerülonefrit (MPGN)

Membranoproliferatif Glomerülonefrit, mezangiyal hiperselülarite, kompleman ve bazen immün komplekslerin subendotelyal birikimi ile karakterize, glomerüler kılcal duvarların kalınlaşması ve bazal membran duplikasyonu ile sonuçlanan nadir bir glomerüler hastalık grubudur. İmmünofloresan boyama ile iki ana tipe ayrılır; immun kompleks aracılı MPGN (IC-MPGN) ve kompleman aracılı glomerulopati (C3, ve C4 ve dens depozit glomerulonefrit) (48).

1.4.5. Membranöz Glomerülonefrit (MGN)

Membranöz nefropati, böbrek glomerülünün patolojik olarak tanımlanmış bir bozukluğudur. Spesifik lezyon, bazal membranın dış tarafında immün kompleks oluşumundan kaynaklanan glomerüler kapiller duvarların belirgin kalınlaşmasıdır (49). Vakaların çoğu birincil veya idiyopatik iken, vakaların sadece yaklaşık %25'i sistemik lupus eritematozus, hepatit B, ilaçlar ve maligniteler gibi bazı bilinen hastalıklara sekonderdir. Hem primer hem de sekonder membranöz nefropatinin teşhisi, renal biyopsiye, özellikle immun florasan incelemede glomerüler kapiller haka boyunca granüler IgG birikintilerinin bulunmasına dayanır (50).

1.5. Nefrotik Sendromda Tedaviye Cevaba Göre Sınıflandırma

Nefrotik sendrom steroid tedavisine verdiği yanıta göre steroide dirençli ve steroide duyarlı olarak iki grup halinde incelenmektedir.

1.5.1. Steroide Yanıtlı Nefrotik Sendrom

Steroidler, çocukluk çağı nefrotik sendromunun tedavisinin temel taşıdır. Vakaların çoğunda, pediatrik idiyopatik nefrotik sendromun klinik remisyonuna steroid tedavisi ile ulaşılabilir. Bununla birlikte, tedavi edilen çocukların %80'inde ödem ve proteinüri nüksü görülür ve bu çocukların %50'si

kadarında kortikosteroid tedavisi sırasında sıklıkla tekrarlayan nefrotik sendrom veya steroid bağımlı nefrotik sendrom gelişir (51).

1.5.2. Steroide Bağımlı Nefrotik Sendrom

Steroid bağımlı nefrotik sendrom (SBNS), steroidin kesilmesinden sonraki 2 hafta içinde veya steroid tedavisi kesilirken iki ardışık nüks görülmesidir (52). Oral prednizon tam remisyon sağlanana kadar SNBS tedavisinde devam edilir. Tam remisyon sağlandıktan sonra en düşük dozda gün aşırı prednizona en az üç ay devam edilir. Ciddi yan etkilerin olmadığı durumlarda gün aşırı tedavi etkili olmuyorsa remisyon halini sürdürecek en düşük dozda günlük prednizon verilebilir (53).

1.5.3. Steroide Dirençli Nefrotik Sendrom

Steroide Dirençli Nefrotik Sendrom (SDNS), günde 2 mg/kg dozunda dört haftalık günlük prednizon tedavisinden sonra remisyona girmeme durumu olarak tanımlanır. Toplam vakaların %20'sini oluşturan SDNS'nin FSGS ile ilişkili olma olasılığı daha yüksektir. SDNS vakalarının %36-50'sinin 10 yıl içinde son dönem böbrek yetmezliğine ilerleyeceği bilinmektedir (54).

1.5.4. Remisyon

Üç gün arka arkaya çubukla bakılan idrar proteininin negatif veya eser olması ya da spot idrar protein/kreatinin <0,2 (mg/mg) olması durumudur (55).

1.5.5. Relaps

Remisyonda iken ardışık 3 gün boyunca >40 mg/sa/m2 yada idrar protein:kreatinin oranının >200mg/g veya idrar dipstiksi ile 3+ ve üzeri protein saptanması ile karakterize olan durumdur (55).

1.6. Nefrotik Sendrom Etyolojisi

Nefrotik sendromun yaygın birincil nedenleri; membranöz nefropati, minimal değişiklik nefropatisi ve fokal glomerüloskleroz gibi intrinsik böbrek hastalıklarıdır. İkincil nedenler, lupus eritematozus, diabetes mellitus ve amiloidoz gibi sistemik hastalıkları içerebilir. Konjenital/kalıtsal fokal glomerüloskleroz; podosin, nefrin veya katyon kanalı proteini gibi podosit proteinlerindeki genetik mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkabilir (56). Enfeksiyöz hastalık epizodu özellikle üst solunum yolu, vakaların neredeyse yarısında

tetikleyici bir faktördür, vakaların üçte birinde alerjik reaksiyon ve daha nadiren böcek ısırığı veya aşılamadır (57).

T lenfositlerinin işlev bozukluğunun veya düzensizliğinin NS patogenezinde yer aldığından şüphelenilmektedir (36).

1.7. Nefrotik Sendrom Patogenez ve Patofizyolojisi

Podosit ve Glomerüler Filtrasyon Bariyeri Kusurları

NS'nin patogenezi, bozukluğa neden olan altta yatan hastalıklar kadar çeşitlidir. Temel kusur, GFB'nin arızalanmasında yatmaktadır. Bu bariyer üç katmandan oluşur: içten dışa; pencereli endotel hücreleri, glomerüler bazal membran (GBM) ve podositlerin ayak uzantılarının iç içe geçen tabakası. Bu üç katman arasında podositler, NS sunumundaki hasarın ana hedefi olarak ortaya çıkmıştır. Bu hasara genetik anormallikler, bağışıklık bozuklukları ve dolaşımdaki faktörler neden olabilir (58).

Podositler, proliferatif özelliklere sahip olmayan terminal visseral epitel hücreleridir ve hücre içi homeostazı bütünlükleri için gerekli kılar. Podositler, glomerüler bazal membranı çevreler. Glomerüler bazal membran ve endotel hücreleri ile birlikte böbreklerimizdeki protein trafiğini düzenleyen glomerüler filtrasyon bariyerini oluşturur. Podositler, glomerüler morfoloji ve fonksiyonun sürdürülmesi için kritik öneme sahiptir. Ayrıca, genetik mutasyonlar, bağışıklık bozuklukları, enfeksiyonlar, hemodinamik değişiklikler toksik maruziyet veya metabolik değişiklik podositlerde hasara yol açabilir (59). Glomerüler filtrasyon bariyeri, kan bölmesinden idrar bölmesine kadar üç katmandan oluşur.

Glomerüler endotel hücreleri; Kılcal damarları çevreleyen bu hücrelerin sitoplazması glomerül gözenek oluşturma özelliğine sahiptir. Yüzeyde bu gözeneklerin ve glikokaliksin varlığı su ve düşük moleküler ağırlıklı çözünen maddelere karşı geçirgenlikte önemli bir rol oynar. Bu hücreler, vasküler endotel büyüme faktörü reseptörü ve CD31 gibi spesifik endotel belirteçlerini ifade eder. Glomerüler bazal membran (GBM); Proteoglikanların ilişkili olduğu, birbirine bağlı tip IV kollajen ve laminin ağlarından oluşan bir matris yapısıdır. Visseral epitel hücreleri; podositler olarak da adlandırılırlar. Bunlar, yarık diyaframların oluşturduğu, yalnızca küçük boşluklar bırakan sıkı

bir ağ oluşturur. Yarık diyaframların bütünlüğü, podosin veya nefrin gibi karmaşık bir transmembran protein ağı sayesinde sağlanır (60).

1.8. Nefrotik Sendromun İmmünolojisi

Nefrotik sendromun patogenezinde birkaç kanıt bağışıklık sisteminin NS'de çok önemli bir patojenik rol oynayabileceğini göstermektedir. Bunlardan en önemlilerinden birincisi; immünsupresyona dayalı tedavinin etkinliği, ikincisi; hem deneysel modellerden hem de T hücrelerini ve B hücrelerini NS patogenezinde ana oyuncular olarak gösteren hasta çalışmalarından elde edilen bilimsel verilerdir (61).

T lenfositlerinin disfonksiyonu

T hücre disfonksiyonu, idiyopatik NS(INS)'nin patogenezi için klasik bir teoridir. Birkaç çalışma, T lenfositlerinin anormal sayıları ve fonksiyonlarının INS'nin patogenezinde rol oynayabileceğini ortaya koymuştur (62, 63). Kalsinörin (siklosporin ve takrolimus) inhibitörlerinin etkinliği ve kalıtsal olmayan INS'nin tedavisinde steroidlerin kilit rolü, INS'nin etyopatogenezinde T hücresi aracılı immün dengesizliğin rol oynadığını kuvvetle düşündürür (64). Kızamıklı bazı hastalarda, kızamık virüsü hücresel bağışıklığı geçici olarak inhibe ettiğinden remisyon dönemleri görülmüştür (65).

Son yıllarda CTLA-4 aracılığıyla algılanarak T hücrelerini aktive eden yüzey farklılaşma antijeni CD80 proteinüri ve podosit hasarından sorumlu tutulmuştur. Yapılan insan ve hayvan çalışmalarında proteinürik olgularda CD80 yüksekliğinin eşlik ettiği görülmüştür. Bu da NS tedavisinde abatacept ve belatacept gibi CTLA-4 benzeri ajanlarından faydalanılarak yolağın inhibe edilmesi fikrini doğurmuştur. Fakat bunun için daha çok çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır (66, 67).

B lenfositlerinin disfonksiyonu

Son bulgular, B hücrelerinin işlev bozukluğunun, INS'nin patogenezinde T hücrelerinden daha önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Aktive edilmiş B hücrelerinin sayısı, INS'li hastalarda artar ve remisyondan sonra hastalarda önemli ölçüde azalır (68, 69). MDH'li hastalarda serum immünoglobulin E (IgE) konsantrasyonlarında önemli bir artış, B hücrelerinin katılımı için dolaylı bir kanıttır (70). INS'de B hücresi

katılımını düşündüren en önemli kanıt, rituksimabın (RTX) INS'deki etkisinden gelir. RTX, pre-B hücresine ve olgun B hücre yüzey antijeni CD20'ye karşı bir insan-fare kimerik monoklonal antikordur, CD20'yi yüksek afinite ile tanır ve bağlar. Sinyal transdüksiyonu ve çoklu kinazlardan oluşan bir kaskad yoluyla B hücresi apoptozuna aracılık eder (71). Ayrıca NS'de B hücresi sayısındaki azalmaya paralel olarak hastalık aktivitesindeki azalma, B hücre patolojisinin doğrudan dahil olduğunu kuvvetle göstermektedir (72).

Sistemik Dolaşım Faktörleri

İdiyopatik NS sebeplerinden biri de sistemik dolaşımda bulunan bazı faktörlerdir. FSGS'li hastalardan alınan serum örneklerinin laboratuvar ortamında glomerüler protein geçirgenliğini arttırdığının ortaya koyulması plazmaferez tedavisinin bazı hastalarda başarı sağlaması, bazı hastalarda renal transplantasyon ardından nükslerin olması, maternal geçişin görülmesi bu fikri doğrulamaktadır (73).

1.9. Nefrotik Sendrom Genetiği

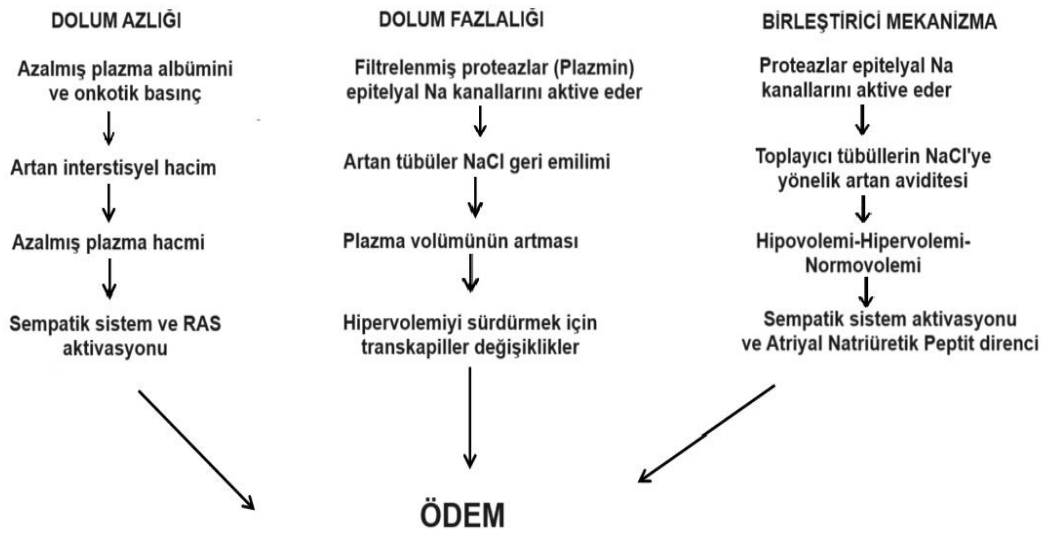
SDNS, çocuklarda son dönem böbrek hastalığının önde gelen nedenidir. Genomik çalışmalardan elde edilen son bulgular, tüm SDNS vakalarının %10-30'unun, tek bir gendeki mutasyonun hastalığa neden olmak için yeterli olduğu monogenik hastalık olduğunu göstermektedir (74). Nefrotik sendromun Mendelyen formlarının nedenlerini çözmeyi amaçlayan gen keşif çabaları, glomerüler filtrasyon bariyerinin kurulması ve sürdürülmesi için çok önemli olan proteinleri kodlayan yeni genlerdeki mutasyonların tanımlanmasıyla sonuçlanmıştır. Bu keşifler, glomerüler filtrasyon işleminin patofizyolojik mekanizmalarının deşifre edilmesine yardımcı olmuştur. Nefrin kodlayan NPHS1'deki mutasyonlar, konjenital nefrotik sendromlu vakaların çoğundan sorumludur ve SRNS'nin infantil formlarında bulunabilir (75, 76). Podosini kodlayan NPHS2 genindeki mutasyonlar, erken başlangıçlı otozomal resesif SRNS'nin en sık nedenidir (77).

1.10. Nefrotik Sendromda Klinik

Klasik olarak, bir çocukta başlangıçta sabahları fark edilen periorbital ödem öyküsü vardır (78). NS masif proteinüri, hipoalbuminemi, ödem ve hiperkolesterolemi ile karakterizedir (79).

Ödem: Nefrotik sendromun en karakteristik bulgusudur. Periorbital ödem, genellikle ilk semptomdur ve sıklıkla alerjik ödem olarak yanlış teşhis edilir. Ödem yerçekimine bağlıdır, dik pozisyonda alt ekstremitelerde ve yatar pozisyonda vücudun sırt kısmında lokalizedir. Nefrotik sendromda ödemin etiyolojisi için iki hipotez öne sürülmüştür. Hipotezlerden biri; yüksek dereceli proteinürinin hipoalbuminemiye yol açtığını ve bunun da plazma onkotik basıncını düşürerek sıvının interstisyuma sızmasına neden olduğunu ileri süren 'yetersiz dolum' hipotezidir. İntravasküler volüm azalması sonucu taşikardi, hipotansiyon ve oligüri gelişebilir ve renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi (RAAS) aktive olur. Tersine, aşırı dolum hipotezi, idrardaki protein kaybının sonuç olarak sodyum tutulmasına yol açtığını ve böylece interstisyuma sıvı taşmasına yol açan intravasküler hacim genişlemesine neden olduğunu varsayar. Nefronun distal segmentindeki epitelyal sodyum kanalı (ENaC), NS'de sodyum geri emiliminin birincil aracıdır (34, 80, 81).

NS'de ödem varlığını açıklamak için iki ana hipotez öne sürülmüştür. Yetersiz dolum hipotezine göre, hipoalbuminemiye bağlı olarak plazma onkotik basıncındaki azalma, sıvıların intravasküler sistemden interstisyel kompartmana geçişine neden olacaktır. Sonuçta ortaya çıkan hipovolemi ve azalan böbrek dolaşımı sempatik sistemi ve renin-anjiyotensin sistemini aktive ederek NaCl tutulmasına ve hipovolemiyi sürdüren aferent ve efferent arteriyollerde vasküler direncin artmasına neden olur. Aşırı dolum hipotezi, muhtemelen filtrelenen proteinler arasında proteazların varlığına bağlı olarak sodyum tutulumu varsayımına dayanmaktadır. Plazmine dönüştürülebilen plazminojen veya katepsin B, toplama kanalındaki epitelyal sodyum kanalını aktive edecektir. Sodyum tutulumunun yanı sıra, atriyal natriüretik peptite karşı tübüler direnç ve artan efferent sempatik aktivitenin neden olduğu arteriyoler vazokonstriksiyon dahil olmak üzere diğer mekanizmalar NS'de ödeme neden olabilir (82) (Şekil-1).

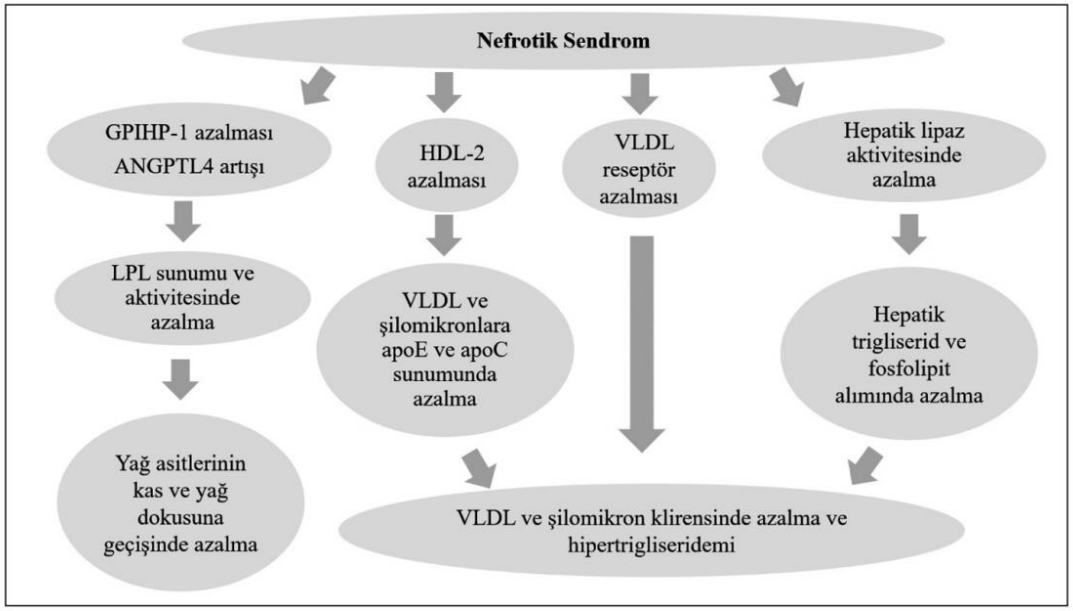


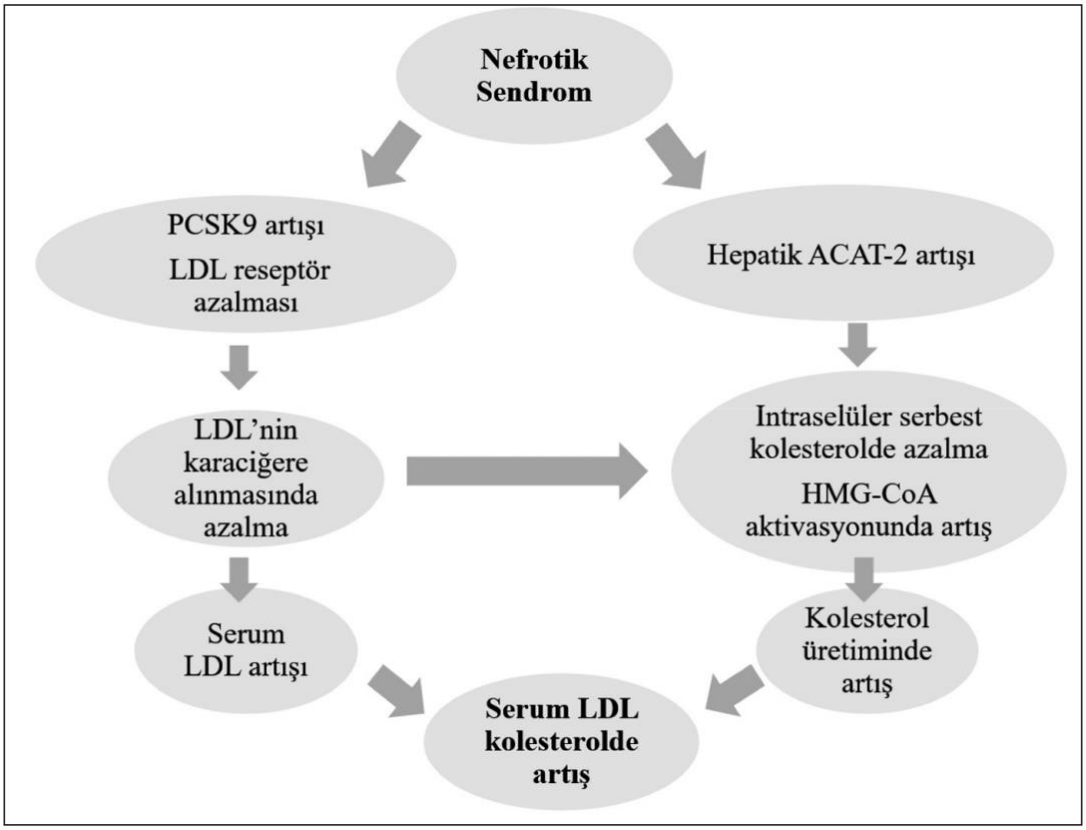
Şekil-1: Ödem mekanizması (82).

Proteinüri: Nefrotik sendrom tanı kriterlerinden biri olan proteinüri, glomerüler filtrasyon bariyerindeki bozulma nedeniyle görülür. Çocuklarda >40mg/m^2 /saat üstünde protein atılımının olması veya spot idrar protein / kreatinin oranının 2'den büyük olması nefrotik düzeyde proteinüri olarak kabul edilir. İdrar ile en çok kaybedilenler albümin, koagülasyon faktörleri, immünglobulinler ve metalloproteinlerdir (47, 83).

Hipoalbuminemi: Serum albümin düzeyinin ≤2,5 g/L'in olmasıdır. Hipoalbuminemi nedeniyle plazma onkotik başınç düşer ve interstisyuma sıvı geçişi olur.

Hiperlipidemi: Nefrotik sendromlularda kolesterol, trigliserit, LDL, VLDL artarken; HDL'nin düzeyi azalır ya da değişmez. Erişkinlerde hiperlipidemi kardiyovasküler hastalık riskini artırırken; bu risk çocuklarda özellikle steroide duyarlı tipte, erişkinlerde olduğu kadar ciddi değildir. Lipit düşürücü ajanların kullanımı erişkinlerde yaygın iken çocuklarda sık değildir (Şekil-2) (47).





Şekil-2: Nefrotik sendrom ve lipid bozuklukları (84).

1.11. Nefrotik Sendrom Komplikasyonları

Enfeksiyöz Komplikasyonlar: Çocukluk çağı NS, enfeksiyon da dahil olmak üzere yüksek bir komplikasyon riski taşır. Artan enfeksiyon sıklığının patogenezi, hücre aracılı bağışıklıktaki kusurlar, immünoglobulinlerin idrarla kaybı ile bağlantılıdır (85). Çocukluk çağı NS'li hastaların karşılaştığı enfeksiyonların yarısından fazlası üst solunum yolu enfeksiyonudur, bunu pnömoni, cilt, ve idrar yolu enfeksiyonu izler (86).

Tromboembolik Komplikasyonlar: Tromboembolik komplikasyon genel insidansı % 3,6 iken; KNS'de %9, steroide dirençli nefrotik sendromu %6,3; idiopatik NS %1.5 olarak saptanmaktadır. Venöz tromboembolizm (VTE) ve arteriyel tromboembolizm (ATE) her ikisi de NS'de görülür, ancak VTE daha yaygındır. Derin ven trombozu (% 49), merkezi sinir sistemi (% 14), pulmoner emboli (% 12) ve renal ven trombozu (% 11) olarak izlenmektedir.

Çoğu vakada başlangıçta profilaktik antikoagülasyon veya antitrombosit tedavisi gerekli değilidir (87).

Kardiyovasküler Hastalıklar: NS'li hastalar, aterosklerotik lezyonların gelişimine katkıda bulunan hipoalbuminemi, pıhtılaşmada bozukluk, hipertansiyon ve steroid kaynaklı obezite kardiyovasküler risk faktörlerine maruz kalır (88).

Akut Böbrek Hasarı: böbreklerin fonksiyonundaki hızlı bir azalma, atık maddelerin eliminasyonunda problemler, bozulmuş elektrolit, asit-baz dengesi ve dengesiz sıvı homeostazı ile karakterize bir durumu tanımlar (89). Akut böbrek hasarı, NS ile hastanede tedavi gören çocuklarda artık en önemli üçüncü komplikasyon olarak kabul edilmektedir. Hemokonsantrasyon ve intravasküler volümde azalma olan bir çocukta diüretiklerin kullanılması ABH'ye yatkınlık oluşturabilir. Renal ven trombozu, hipovolemi ve sepsis durumunda akut tübüler nekroz ve nonsteroid antiinflamatuar ilaçlar veya antibiyotik kullanımının neden olduğu interstisyel nefrit de ABH için risk oluşturur (90).

1.12. Nefrotik Sendromun Laboratuvarı

Nefrotik sendromlu hastaların laboratuvar değerlendirmesi; hastalığın tanısı, olası etiyolojik nedenlerin saptanması ve böbrek biyopsisi ile kesin tanının netleştirilmesi açısından çok önemlidir.

İdrar Testleri: İdrardaki protein ölçümü idrar stribi ile yapılıyorsa, albümin bulunması durumunda kâğıt striplerdeki boyaların renk farklılaşması esası göz önünde bulundurulur. İdrar stribi tarama amacıyla kullanılır, bu ölçümlerle teşhis koyulmamaktadır. NS tanılı hastaların bazılarında 3+, 4+ (300 ile >1000 mg/dL) saptanmaktadır. Kantitatif olarak proteinüri miktarının saptanması için idrar 24 saatlik toplanması gerekir. Ölçümlerde 50 mg/kg/gün veya 40 mg/m^2/saat'in üstündeki proteinüri, nefrotik düzey kabul görmektedir. Çocuk hastalarda 24 saatlik idrar toplamanın zor olabileceği durumlarda, alternatif olarak sabah ilk idrarda protein/kreatin oranına bakmak gerekebilir. Eğer bu oran 2-3 mg/mg'ın üzerinde ise nefrotik düzeyde proteinüri mevcut olabilir (Tablo-3) (47).

Tablo-3: Normal ve nefrotik proteinüri (38).

Kalitatif; idrar dipstik test ile albümin tespiti • 1+ 30-100 mg/dl • 2+ 100-300 mg/dl • 3+ 300-1000 mg/dl • 4+ >1000 mg/dl
Semikantitatif; sabah idrarında protein/kreatinin oranı (mg/mg kreatinin) • 0,2'in altında normal • 0,2–2,0 hafif • 2,0'in üzerinde ağır proteinüri
Kantitatif; 24 saatlik idrar proteini • Normal: 40 mg/m2/sa • Nefritik düzey: 4–40 mg/m2/sa • Nefrotik düzey:> 40 mg/m2/sa

Kan Testleri: NS'de hipoalbuminemi, sıvının interstisyel boşluğa ekstravazasyonuna neden olarak onkotik basıncın düşmesine neden olabilir (91). Nefrotik sendromdaki proteinüri, glomerüler kapiller duvar boyunca makromoleküllerin artan filtrasyonundan kaynaklanır. Nefrotik sendrom tanısı, hem nefrotik düzeyde proteinüri hem de hipoalbumineminin varlığı ile doğrulanır. Hipoalbüminemi nedeniyle plazma protein seviyeleri 50 g/l'den daha azdır. Albümin seviyesi 30 g/l'nin altındadır. Elektroforezde, albümin azalmış alfa 2-globulinler ve beta-globulinler artmış olarak görülür. Gama globulinlerin seviyesi nefrotik sendromun nedenine göre değişir. Örneğin,

minimal değişiklik hastalığında IgG seviyeleri belirgin şekilde azalır ve sistemik lupus eritematozusta yükselir (92). Toplam kolesterol ve LDL kolesterol yükselirken, HDL kolesterol değişmez veya düşüktür (93). Şiddetli hipoalbuminemisi olan hastalarda trigliseritler ve VLDL artar. Apoproteinler, apo B, apo CII ve apo CIII de yükselir. Lipoprotein A seviyeleri de yükselir ve bu durum kardiyovasküler ve trombotik komplikasyon riskinde artışa neden olur (94). Kısmen hiperlipidemiye, kısmen de hipovolemi ve uygun olmayan antidiüretik hormon salgılanmasına bağlı olarak böbreklerde su tutulmasından kaynaklanan dilüsyon nedeniyle sıklıkla serum sodyumu azalır. Böbrek yetmezliği durumlarında hiperkalemi görülebilir. Hipokalsemi, hipoalbüminemi ile ilişkilidir ve iyonize kalsiyum seviyesi genellikle normaldir. Fibrinojen ve faktör V, VII, VIII ve X artarken heparin kofaktörü antitrombin III, faktör XI ve XII azalır. Bu anormallikler pıhtılaşabilir bir duruma neden olur (95, 96). Anemi; idrarla demir, eritropoietin, transferrin, transkobalamin kayıplarının bir sonucu olarak ortaya çıkabilir (97).

Böbrek Biyopsisi: NS'de böbrek biyopsisi endikasyonları şunlardır:

a. Yaş<12 ay veya >12 yıl
b. İnatçı hipertansiyon
c. Renal fonksiyon bozukluğu
d. Gros hematüri
e. Düşük plazma C3 düzeyi
f. Hepatit B veya C pozitifliği
g. Steroid dirençli NS (98).

1.13. Nefrotik Sendromda Tedavi

1.13.1. Steroid-Sensitif Nefrotik Sendromda Tedavi

Nefrotik sendromun başlangıç tedavisi: Genel olarak klavuzların çoğunluğu hastalara oral glukokortikoidlerin 8 hafta (4 hafta günlük glukokortikoid ve ardından 4 hafta gün aşırı glukokortikoid) veya 12 hafta (6 hafta günlük glukokortikoid ve ardından 6 hafta gün aşırı glukokortikoid) verilmesini önermektedirler (99). Uygulama esnasındaki 8 haftalık standart doz rejimi; 4 hafta boyunca günlük oral prednizon/prednizolon 60 mg/m2/gün veya 2 mg/kg/gündür (maksimum 60 mg/gün), ardından 4 hafta günaşırı 40 mg/m2

prednizon/prednizolon, veya 1,5 mg/kg/gündür (maksimum 50 mg). Uygulama esnasındaki 12 haftalık standart doz rejimi; 6 hafta boyunca günlük oral prednizon/prednizolon 60 mg/m2/gün veya 2 mg/kg/gündür (maksimum 60 mg/gün), ardından 6 hafta günaşırı 40 mg/m2 prednizon/prednizolon, veya 1,5 mg/kg/gündür (maksimum 50 mg) (99).

Nefrotik Sendrom relapslarının önlenmesi ve tedavisi: Nüksetmeye yönelik ilk yaklaşım, çocuk en az 3 gün üst üste idrarda protein olmadığının saptanmasına kadar günlük tek doz 60 mg / m2 / gün veya 2 mg / kg / gün (maksimum 60 mg / gün) olarak oral prednizon / prednizolon uygulanmasıdır. Tam remisyona ulaştıktan sonra, ≥4 hafta süreyle oral prednizon/prednizolon dozunu gün aşırı olarak 40 mg/m2 veya 1.5 mg/kg'a (maksimum 50 mg) düşürülür. Sık tekrarlayan nefrotik sendromu veya steroid bağımlı nefrotik sendromu olan glukokortikoid toksisitesi gelişmeyen çocuklar için, sonraki nükslerde aynı glukokortikoid rejimi kullanılabilir. Bu hastalara nüksetmeyi önlemek için düşük doz günaşırı oral prednizon/prednizolon (optimal olarak ≤0,5 mg/kg/gün) reçete edilebilir. Sık tekrarlayan ve steroid bağımlı nefrotik sendromu olan glukokortikoid kullanan veya glukokortikoid kullanmayan çocuklar için, hafif üst solunum yolu ve diğer enfeksiyon atakları sırasında günlük 0,5 mg / kg / gün, 5-7 gün glukokortikoid uygulamasının nüks riskini azalttığı gösterilmiştir (Tablo-4) (99).

1.13.2. Steroid-Dirençli Nefrotik Sendromda Tedavi

KDIGO kılavuzları glukokortikoid ile ilişkili ciddi yan etkiler gelişen, sık tekrarlayan nefrotik sendromlu çocuklar ve steroide bağımlı nefrotik sendromlu tüm çocuklar için, tedavi olmaması veya glukokortikoid tedavisine devam edilmesi yerine glukokortikoid içermeyen ilaçlarla tedavi önermektedir. Hastalar, oral siklofosfamid, levamisol, mikofenolat mofetil (MMF), rituximab veya kalsinörin inhibitörleri gibi glukokortikoid olmayan ajanlara başlanmadan önce ideal olarak glukokortikoidlerle remisyonda olmalıdır. Glukokortikoid içermeyen tedavinin başlamasından sonra ≥2 hafta boyunca glukokortikoidlerin birlikte uygulanması önerilir. Oral siklofosfamid, levamizol, MMF, rituksimab ve CNI arasından en uygun glukokortikoid olmayan ajanın seçilmesi, ilaca ulaşılabilirlik, yan etkiler ve hasta tercihleri gibi hastayla ilgili

belirli konuların dikkatlice değerlendirilmesini gerektiren bir karardır. Sık tekrarlayan nefrotik sendromda oral siklofosfamid ve levamisol glukokortikoid olmayan tedaviler olarak tercih edilebilir. MMF, rituximab, kalsinörin inhibitörleri steroid bağımlı nefrotik sendromlu çocukların glukokortikoid içermeyen tedavilerinde oral siklofosfamide göre daha az tercih edilir (99).

Tablo-4: Farmakoterapi dozlaması ve klinik etkileri (99).

İlaç tedavisi	Doz	
Oral siklofosfamid	12 hafta boyunca 2 mg / kg / gün (maksimum kümülatif doz 168 mg / kg)	Siklofosfamid, çocuk remisyona girene kadar başlatılmamalıdır. Şiddetli lökopeni, doz azaltımına veya tedavini kesilmesine neden olan genel kemik iliği baskılanmasını değerlendirmek için tedavi süresince haftalık tam kan sayımı tetkiki önerilir.
Oral levamizol	günaşırı 2,5 mg / kg, maksimum 150 mg'lık doz	Levamizol tedavi sırasında her 2-3 ayda bir tam kan sayımı ve her 3-6 ayda bir alanin ve aspartat aminotransferazlar bakılır.Mümkünse her 6 ayda bir ANCA titrelerini control edin. ANCA pozitifliği, deri döküntüsü veya agranülositoz durumunda tedaviyi kesin.Levamizol almayan güblerde düşük doz günaşırı glukokortikoid dozunun sürdürülmesi bazı çocuklarda etkili olabilir.Levamizola en az 12 ay devam edilmelidir.
Mikofenolat mofetil	Başlangıç dozu 1200 mg / m2 / gün (bölünmüş iki doz olarak verilir)	En az 12 ay devam ettirilmelidir.
Ritüksimab	375 mg/m2 i.v. x 1-4 dozlar	Ritüksimab prednizon ve glukortikoid koruyucu oral ajanların optimal kombinasyonlarına ragmen devam eden sık nüksleri olan ve/veya tedavinin ciddi yan etkileri olan çocuklarda steroide duyarlı nefrotik sendrom için bir tedavi olarak kullanılabilir.Mevcut

		çalışmalar 1 ila 4 doz Ritüksimab önermektedir.Belirli sayoda gerkli doz için yeterli çalışma yoktur. Bu hastalarda CD20 düzeyleri izlenmelidir. Hepatit B yüzey antijeni, Hepatit B antikoru, tuberküloz için quantiferon testi ritüksimab uygulanmadan önce control edilmelidir.Ritüksimab tedavisinden önce ve sonra IgG seviyelerinin izlenmesi, önemli enfeksiyon gelişme riskinin daha erken belirlenmesine ve immunoglobulin replasmanından fayda görebilecek hastaların belirlenmesine katkı sağlar.
Kalsinörin inhibitörü - Siklosporin	4-5 mg / kg / gün Bölünmüş iki dozda	Diabetik komplikasyon riski taşıyan hastalarda siklosporin tercih edilebilir. Remisyonu sürdürmek ve toksisiteyi önlemek için en düşük seviyeler hedeflenir. 12 saatlik 60-150 ng/ml(50-125 nmol/L).
Kalsinörin inhibitörü - Takrolimus	0,1 mg / kg / gün Bölünmüş iki dozda	Siklosporinin kozmetik yan etkilerinin kabul edilemez olduğu durumlarda takrolimus tercih edilir. Remisyonu sürdürmek ve toksisiteyi önlemek için en düşük seviyeler hedeflenir. 12 saatlik 5-10 ng/ml(6-12 nmol/L).

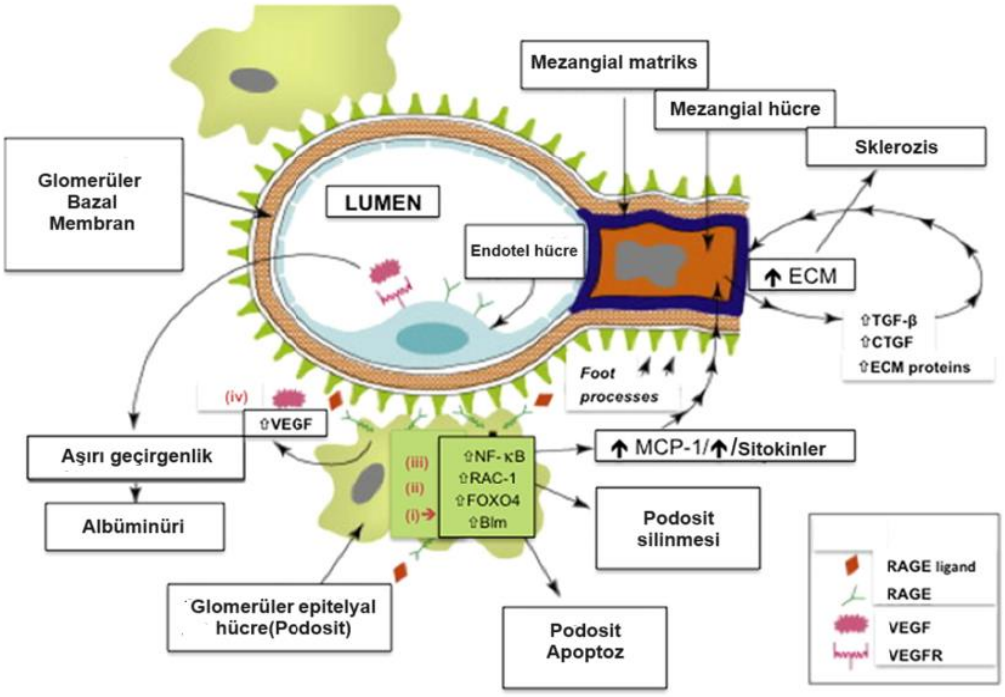
1.14. Deneysel Nefrotik Sendrom

Hayvan modelleri, çeşitli bilimsel araştırmalar için insan materyali elde etmenin etik ve metodolojik zorluklarının üstesinden gelmek için iyi bir stratejiyi temsil eder. Sıçanlar ve fareler, çeşitli NS çalışmalarında kullanılmıştır. Bu kemirgenlerin tercih edilmesi sebebleri arasında, daha düşük bakım

maliyetleri, hızlı üreme döngüsü, insan hastalıklarında olan bulguların benzerliği ve genetik manipülasyon yapılabilmesi yer alır. Ayrıca, kemirgenlerde hızlı böbrek hastalığı indüksiyonu elde etmek mümkündür (100). NS'nin patofizyolojisini incelemek için farklı yöntemlerle deneysel olarak NS üretmek mümkündür. Adriamisin deneysel olarak nefropatiye neden olan bir antrasiklin grubu antineoplastik ajandır (101). Bu deneysel modeli kullanmanın avantajları arasında, ilacın düşük maliyeti, yönetimin daha az karmaşık olması, modelin tekrarlanabilirliğinin iyi olması ve ilacın tek bir dozdan sonra böbrek hasarına neden olabilmesi sayılabilir. Son zamanlarda, adriamisin ile indüklenen lezyonlarda, erken podosit kaybı, anormal podosit göçü, glomerüler parietal epitelyal progenitör hücrelerin proliferasyonu ve kresentler oluşumu ile başlayan glomerülosklerozа yol açan bir dizi olay tanımlanmıştır. Proteinüri ile sonuçlanan podosit hasarı, endotelin-A reseptörü aktivasyonu ile indüklenen ve podositlerde beta-arrestin-1'in artmasına neden olan beta-katenin aktivitesine bağlıdır. Beta-katenin, podosit diyaframında P-kadherin'i hücre iskeletine bağlayan bir proteindir. Proteinüri ayrıca azalmış nefrin, podosin ve sinaptopodin ekspresyonu ile de ilişkilidir (100). Adriamisin ile indüklenen nefrotik sendrom modelinde, adriamisin glomerüllerde oksidatif hasarı uyarır, podosit hasarını arttırır, glomerüler bazal membran değişikliklerine neden olur ve minimal değişiklik hastalığı / fokal segmental glomerülosklerоz benzeri hasar oluşturur (102). Akut adriamisinin neden olduğu bir nefropati modeli, 5-7,5 mg/kg adriamisin'in tek bir kuyruk damarına enjeksiyonu ile indüklenir (103). İntravenöz uygulamadan sonra, adriamisin hızla plazmadan temizlenir ve başta böbrek olmak üzere dokularda birikir. Bu nedenle nefrotoksik özelliği belirgindir. Adriamisin, şiddetli glomerülosklerоz, interstisyel fibröz ve inflamasyon, glomerüler endotel hücre ve podosit hasarına neden olur (101). Sıçanlarda NS'yi indüklemek için Adriamisin kullanan ilk çalışmalardan birinde, vücut ağırlığının kg'ı başına 7.5 mg'lık tek bir intravenöz enjeksiyon kullanılmıştır (104). Sonraki çalışmalarda, genellikle sıçanlarda kullanılan dozlar 5,0 ila 7,5 mg/kg arasında değişmiştir. Ancak, 1,5 mg/kg ila 20,0 mg/kg arasında değişen daha düşük ve daha yüksek dozlar da kullanılmıştır (105, 106). Pedrycz ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada,

nefrotik sendrom oluşturmak amacıyla Adriamisinin intraperitoneal enjeksiyon yoluyla uygulaması incelenmiştir. Çalışmada, sıçanlara 5 mg/kg dozunda intraperitoneal Adriamisin enjekte edilerek nefrotik sendromun oluşturulduğu belirtilmiştir (107). Adriamisin, proteinürinin başlamasından önce böbreklerdeki bazı değişikliklere neden olabilir. Bu değişiklikler arasında glomerüler kapiller duvarda bulunan heparan sülfatın elektriksel yoğunluğunda azalma ve epitelyal membran sialik asitinde hızlı ve sürekli bir azalma yer alır. Bu durum, Adriamisin'in böbreklerdeki normal yapıları etkileyerek protein kaybına yol açabileceğini gösterir (108). Glomerülerin elektriksel yoğunluğundaki bozulma adriamisine bağlı nefrotik sendrom için önemli bir role sahiptir (109, 110). Morfolojik incelemelerde, heparan sülfatta azalma olmadan epitelyal ayrışmanın meydana geldiği görülmüştür (108). Proteinüriden sorumlu diğer bir etkenin oksijen radikalleri olduğu düşünülmüştür (110). Adriamisin tarafından indüklenen NS'li sıçanlarda biyokimyasal değişiklikler meydana gelir. Proteinüri, NS'nin ana özelliğidir ve hayvan modelinin etkinliğini doğrulamaya hizmet eder. Adriamisin enjeksiyonundan 5 ila 7 gün sonra albumin idrarda saptanmaya başlar ve aynı zamanda immünoglobulinlerin, özellikle IgG'nin idrarla kaybı olabilir. Proteinürinin yanı sıra hipoalbuminemi, yüksek serum kreatinin seviyeleri, hematüri, kreatinin klirensinde azalma ve spot idrarda albümin/kreatinin oranında artış vardır (111–113).

Adriamisin kaynaklı nefropatide podosit ve inflamatuar değişiklikler Şekil-3’te gösterilmiştir



Şekil-3: Adriamisin ile indüklenen nefropatide podosit ve inflamatuar değişikliklerin şematik görünümü (102).

1.15. Nefrotik Sendromda Prognoz

Prognoz, minimal değişiklik patolojisi olan hastalar için mükemmeldir ve çoğu hasta kortikosteroid tedavisini takiben remisyona girer (114). Bu hastaların %85 ila 90'ı steroide yanıt verir, bu da onları steroid toksisitesi, sistemik enfeksiyonlar ve diğer komplikasyonlar açısından risk altına sokar.

Fokal-segmental glomerülosklerozu olan hastalar için prognoz ciddidir. Genellikle diyaliz ve böbrek nakli gerektiren son dönem böbrek hastalığına ilerler. Fokal glomerülosklerozu olan hastaların sadece yaklaşık %20'si proteinüri remisyonuna girer, %10 daha iyileşir ancak proteinürik kalır. FSGS'li hastaların %25 ila 30'u beş yıl içinde son dönem böbrek hastalığı geliştirir (115).

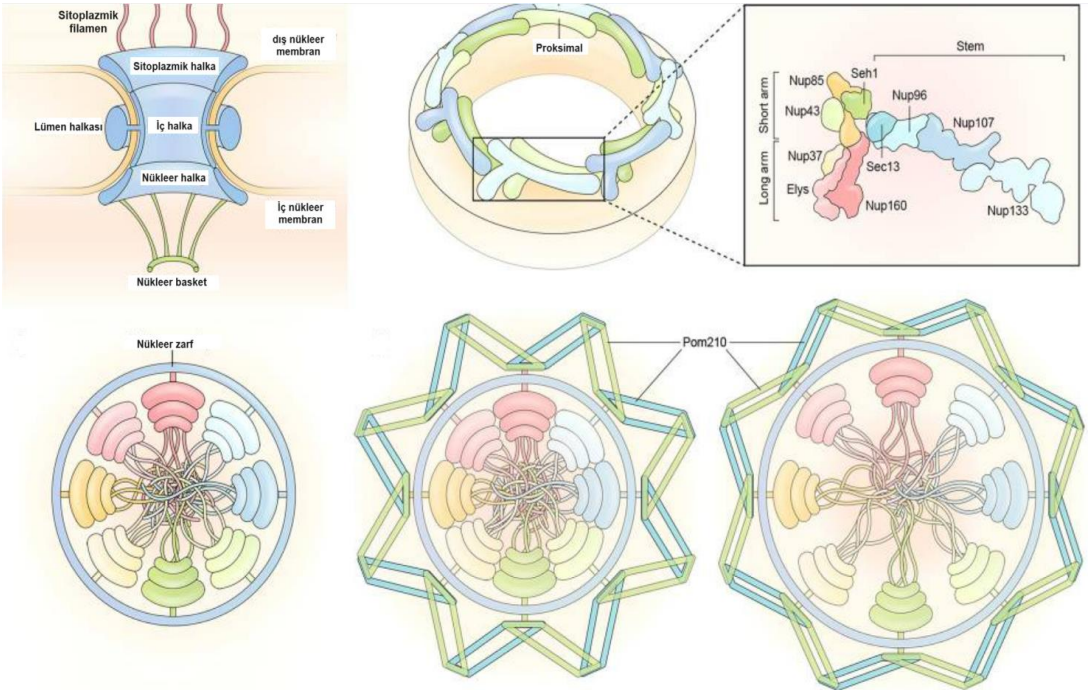
2. Nukleerpor Kompleksleri

2.1. Nukleerpor kompleksinin genel yapısı

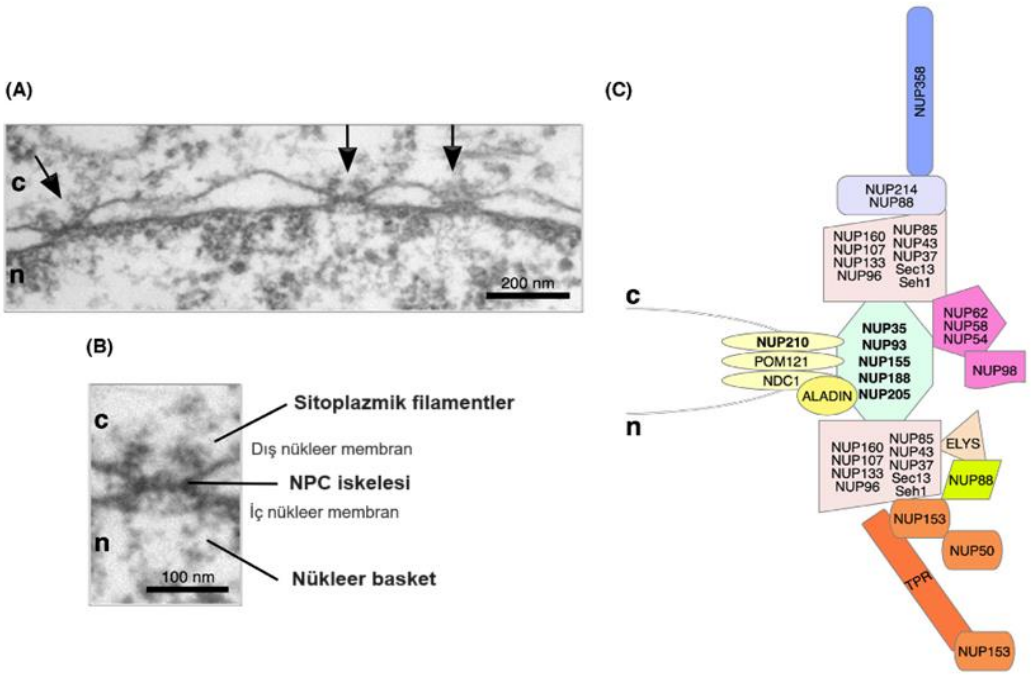
Nükleer zarf, iç nükleer zarı ve dış nükleer zarı içeren bir çift zar sistemi ile sitoplazmayı nükleoplazmadan ayırır. İki zar; proteinler, ribozomal alt birimler ve haberci ribonükleoproteinler gibi farklı komplekslerin nükleositoplazmik taşınmasını kolaylaştıran çekirdeğin yegane geçitleri olan nükleer gözenek kompleksleri (NPC'ler) tarafından kaplanmıştır (116). NPC'ler, küçük moleküllerin ve iyonların pasif difüzyonunu destekler ve proteinlerin, ribonükleoprotein komplekslerinin reseptör aracılı translokasyonunu kolaylaştırır. NPC'nin temel işlevi, nükleo-sitoplazmik trafiğin kolaylaştırılması ve aynı zamanda sitoplazmayı nükleer bölmeden ayırmak için bir difüzyon bariyeri oluşturmasıdır. Genel olarak, omurgalı NPC'si, farklı alt kompleksler olarak tekrar tekrar düzenlenmiş nükleoporinler adı verilen ~30 farklı proteinden oluşan ~120 MDa protein kompleksidir (117, 118). Çekirdek gibi zarla çevrili organellerin varlığı, ökaryotik hücrelerin ayırt edici bir özelliğidir (119). Çekirdek, genomik DNA'yı, genomik DNA'yı hücrenin geri kalanından ayıran, nükleer zarf adı verilen bir çift lipid çift tabakası içinde çevreler. Bu mimari, yalnızca genomu hasar kaynaklarından izole etmeye değil, aynı zamanda gen düzenlemesi için fırsatlar sağlamaya da hizmet eder. mRNA'lar veya transkripsiyon faktörleri gibi makromoleküller, çekirdek ve sitoplazma arasında hareket edebilmelidir. Makromoleküllerin çekirdeğin içine ve dışına taşınması olan nükleositoplazmik taşıma, nükleer por kompleksleri aracılığıyla gerçekleşir. İnsanlarda, her bir NPC, nükleoporinler olarak adlandırılan ~ 1.000 protein alt biriminden oluşur ve ~ 110 MDa'lık bir moleküler kütleye ulaşır (120, 121). Nüklear por kompleksi, merkezi bir kanal (~90 nm uzunluğunda) etrafında dizilmiş sekiz çubuk ve çubukların tutunduğu halkalardan oluşur. Bu yapı iç ve dış nuklear membranla birleşmiştir (122). Bu nükleer por kompleksini hücrelerdeki en büyük makromoleküler düzeneklerden biri yapar. NPC'ler, makromoleküllerin çekirdeğin içine veya dışına serbestçe yayılmasını önleyerek nükleer bölmenin bütünlüğünü korurlar, ancak diğer çoğu zar taşıyıcının aksine, nükleer por kompleksleri

kargoları kendi doğal katlanmış hallerinde iletirler. Bu özellik, makromoleküllerin transkripsiyonel bir programı etkinleştirmek için sinyal iletimi sırasında olduğu gibi, taşımadan hemen sonra hareket etmesine izin verir. Nükleer por kompleksi, fenilalanin ve glisin tekrarları ve doğası gereği düzensiz dizileri içeren pasif bir difüzyon bariyeri oluşturur (120, 121). Fenilalanin-Glisin(FG) tekrarları içeren nükleoporinler, -40 kDa'dan büyük kargoların pasif taşınmasını bloke ederken, daha küçük moleküllerin serbestçe dağılmasına izin veren bir hidrofobik bariyer oluşturur (123, 124). Nükleer gözenek kompleksi üç bölüme ayrılabilir: merkezi çekirdek, sitoplazmik filamentler ve nükleer sepet. Merkezi çekirdek ayrıca merkezi kanalı çevreleyen dört halkaya bölünebilir: iç halka, sitoplazmik halka, nükleer halka ve lümen halkası. İç halka, merkezi kanalı çevreleyen birbiriyle ilişkili sekiz alt birimden oluşur. Merkezi kanal, nükleer zarf boyunca serbest difüzyonu engelleyen düzensiz FG tekrar polipeptitleriyle doludur. İki dış halka (sitoplazmik ve nükleer halkalar) oldukça benzerdir. Her bir dış halka, iki eşmerkezli halka halinde düzenlenmiş ve bağlayıcı nükleoporinler tarafından stabilize edilmiş, Y kompleksinin 16 kopyasını içerir. Y kompleksi üç bölgeye ayrılabilen 10 nükleoporinden oluşur: gövde, kısa kol ve uzun kol. Pom210'un uçtan uca bağlı otuz iki kopyası NPC'yi çevreliyor ve nükleer zarfın diğer tarafındaki iç halka ile etkileşime giriyor (125) (Şekil-4). Nükleoporinler alt kompleksler halinde gruplanır ve farklı sekans ve yapısal motiflere göre ayırt edilir: transmembran nükleoporinler, iç halka nükleoporinleri, dış halka nükleoporinleri, sitoplazmik filament nükleoporin kompleksinin nükleoporinleri, merkezi kanal nükleoporinleri, ve nükleer sepet nükleoporinleri (126) (Şekil-5). Makromoleküllerin nükleer taşıma faktörleri olarak bilinen özel taşıma faktörleri tarafından taşınmaları gerekir. Nükleer por kompleks aracılığıyla bu kolaylaştırılmış taşıma biçimi hızlıdır, bu taşımalar saniyenin çok daha kısa bir bölümünde meydana gelir ve NPC'ler aracılığıyla saniyede yüz ila binlerce makromolekül toplamına ulaşan geçişler vardır (127, 128). Bu moleküllerin taşınması nukleus porlarından nukleoporinlerin yardımıyla gerçekleşir (129). Hücre biyolojisindeki merkezi rolleri göz önüne alındığında, nükleoporinler viral enfeksiyon, kanser ve nörodejeneratif hastalık dahil olmak üzere çok çeşitli

insan hastalıklarıyla ilişkilendirilmiştir (119). Nükleoporinlerin boyutları değişkendir ve ~ 30-358 kda'lık moleküler kütlelere sahiptir. Proteinler çoğunlukla nükleoporin ve ardından moleküler kütlelerine karşılık gelen bir sayı ile adlandırılır. Ökaryotik canlıların hepsinde nukleus zarflarında fazla miktarda nüklear por kompleksi vardır. Yüksek organizasyonlu ökaryotiklerde bu yapıların her biri ortalama 125 milyon moleküler kütleye sahiptir ve 30'dan fazla farklı proteinden oluşmaktadır (122). NPC'nin sekiz katlı dönme simetrisi nedeniyle, nükleoporinler sekizin katları halinde birleştirilir (130). Pek çok nükleoporin ilk önce glikosile edilmiş FG tekrarlarını tanıyan mAb414 antikoru kullanılarak izole edilmiştir (131). FG tekrar bölgeleri özünde düzensizdir, tipik olarak yüzlerce kalıntıya yayılır ve genellikle polar amino asitlerle zenginleştirilir ve yüklü amino asitlerin tükenmesi sağlanır (132). Son yirmi yılda NPC taşıma ve seçicilik mekanizmaları ile ilgili birçok fikir tartışıldı. Önerilen mekanizmalar genellikle FG NUP'ların konformasyonel dinamikleri üzerinde farklılık gösterse de, çoğu transportun temel fiziksel görüntüsü üzerinde hemfikirdir. FG NUP'lar, inert moleküller için bir geçirgenlik bariyeri oluşturur ve taşıma proteinlerinin geçici bağlanması için şablon görevi görür (133).



Şekil-4: Nükleer por kompleks ve bölümleri (125).



Şekil-5: Nükleer gözenek kompleksi yapısı ve bileşimi. (A) nükleer zarfın ve (B) HeLa hücrelerinin nükleer gözenek kompleksinin (NPC) kesitinin elektron mikrografları. Oklar, (A)'da Nükleer zarftaki NPC'lerin konumunu gösterir. Bir NPC'nin yapısal elemanları (B)'de belirtilmiştir. (C) Nükleoporinler alt kompleksler halinde gruplanır ve farklı sekans ve yapısal motiflere göre ayırt edilir: transmembran nükleoporinler (açık sarı), iç halka nükleoporinleri (açık yeşil), dış halka nükleoporinleri (açık kırmızı), sitoplazmik filament nükleoporin kompleksinin nükleoporinleri (açık ve orta mavi), merkezi kanal nükleoporinleri (pembe) ve nükleer sepet nükleoporinleri (turuncu) (126).

2.2. Nükleositoplazmik Taşımanın Düzenlenmesi

Birçok proteinin, hücrede uygun rollerini yerine getirebilmesi için çekirdeğin içine ulaşması gerekir. Örneğin ribozomal proteinler, diğer tüm proteinler gibi sitoplazmada yapılır. Bununla birlikte, ribozomların kendileri çekirdek içinde, ribozomal proteinlerin ribozomal öncesi alt birimleri oluşturan RNA yapı iskelesiyle buluştuğu nükleolde oluşturulur. Bu nedenle, ribozomal proteinlerin bir araya getirilebilmesi için NPC geçirgenlik bariyerini aşması gerekir (134). Ribozomal işlevle ilgisi olmayan diğer birçok protein de işlevlerini yerine getirmek için çekirdeğe geçmelidir. Bunlar, intranükleer cisimlerin bileşenlerini, tümör baskılayıcıları, transkripsiyon düzenleyicileri ve genetik materyalle etkileşime giren diğer tüm proteinleri içerir (135). Porlardan geçişte

iki taşıma yönteminin olduğu güncel bir görüştür: pasif difüzyon ve kolaylaştırılmış taşıma. Parçacığın çapının yanısıra moleküler ağırlığının bir parçacığın NPC'den pasif olarak yayılıp yayılmayacağının belirlenmesinde baskın rol oynadığı belirlenmiştir. Genel olarak ~40 kDa ve 8 nm çap kabul edilen eşik değerlerdir (136, 137). Bu büyüklükler, çok sayıda deneyle desteklenmiştir. Bir parçacık bu boyutun ve/veya ağırlık sınırının üzerindeyse, bir nükleer taşıma reseptörüne bağlanmadığı sürece geçişlerde zorluk çeker (138, 139). Daha büyük kargolar, kargo tarafından görüntülenen nükleer lokalizasyon sinyallerini (NLS) veya nükleer export sinyallerini (NES) tanıyan nükleer taşıma reseptörlerine (NTR) bağlanarak kolaylaştırılmış difüzyon yoluyla verimli bir şekilde taşınabilir. Nükleer transport için hedeflenen kargolar, yüzeylerinde NLS'ler veya NES'ler olarak sınıflandırılabilecek kısa amino asit dizileri içerir. Klasik NLS'ler bazik amino asit uzantılarının olmaları ile tanınırlar (140, 141). Hücre nukleusuna yönelen proteinler, özel tanıma dizileri olan NLS motifleri aracılığıyla importin alfa adlı bir protein tarafından tanınır ve yakalanır. Daha sonra bu yakalanan proteinler, importin beta proteinine bağlanır. Bu bağlanma sonucunda oluşan protein kompleksleri, nuklear por komplekslerine yönlendirilir. Nuklear por kompleksleri, hücre nukleusu ve sitoplazma arasında geçiş yapabilen yapılar olarak işlev görür. Bu mekanizma sayesinde hücre içi sinyal iletimi ve gen düzenlemesi gibi önemli süreçlerin kontrol edilmesine yardımcı olunur. Proteinlerin hücre nukleusuna taşınma işlemi, Ran adlı GTP parçalayıcı (GTPaz) enziminin "kargo / importin alfa / importin beta" kompleksine bağlanmasıyla gerçekleştirilir. Bu kompleks, hücre içi taşıma mekanizmasını yöneten önemli bir bileşendir. Ran enzimi, GTP moleküllerini hidroliz ederek enerji sağlar ve bu enerji sayesinde kargo molekülleri, importin alfa ve importin beta tarafından nuklear por komplekslerinden geçirilerek hücre nukleusuna taşınır (142). Taşınma işlemi tamamlandıktan sonra importin proteinleri karşılıklı olarak ayrılır ve nükleer por komplekslerinden geçerek hücre sitoplazmasına geri yönelirler (143). Bazı proteinler özel taşıma dizilerine sahiptirler ve importin taşıyıcılarına ihtiyaç duymadan NPC içinden geçebilirler. Bununla birlikte, diğer bazı proteinler ise importin proteinleri yerine "transportin" adı verilen bir protein ailesini kullanarak

nükleus içine taşınır. Transportin, bu proteinleri NPC içinden alarak hücre nukleusuna yönlendirir (144). RNA molekülleri ve Ribozomun alt birimleri benzeri büyüklükteki moleküllerin nükleustan sitoplazmaya taşınması, nuklear porlar aracılığıyla düzenli bir şekilde gerçekleşir. Bu taşıma işlemi, nukleustan sitoplazmaya yönlendirme reseptörleri ve nuklear eksport sinyalleri kullanılarak düzenlenir (143). Proteinlerden hücrenin nükleusuna doğru gidenler, özel tanıma dizileri olan NES motifleri ile tanınırlar. Bu proteinler, hücre nukleusundan sitoplazmaya doğru taşınmaları için özelleşmiş bir taşıma mekanizması gerektirir. NES motifleri, hücre içi taşıma işlemi sırasında nukleus içinde tanınan ve bağlanan dizilerdir. Bu proteinler, taşıma işlemi sırasında "eksportin" adı verilen özelleşmiş proteinlere bağlanır. Eksportin proteinleri, nukleus içinde hedef proteinin yakalanmasını ve nukleardan sitoplazmaya yönlendirilmesini sağlar (142). Meydana gelen kompleks proteinler NPC'ye taşınır. Bu ulaşma hareketi, "Ran" adlı GTPaz enzimlerinin "kargo / eksportin" komplekslerine bağlanmasıyla gerçekleştirilir (145). Taşınma işlemi tamamlandıktan sonra eksportin proteinleri, nakil olan kargo proteinle birbirinden uzaklaşır. Bu ayrılma, nukleus içindeki sitoplazmaya doğru yönlendirilen hedef proteini serbest bırakır. Ardından, eksportin proteinleri tekrar nükleus içinden nuklear por kompleksleri aracılığıyla nukleusa geri dönerler. Bu süreç, hücre içi taşımanın döngüsel bir mekanizmasını temsil eder. Eksportinler, sitoplazmaya taşınan kargo proteini serbest bırakıldıktan sonra nükleusa geri dönerek taşıma işlemine hazır hale gelirler. Bu mekanizma, nükleus içindeki proteinlerin düzenli bir şekilde taşınmasını ve hücresel işlevlerin sağlıklı bir şekilde sürdürülmesini sağlar (146).

2.3. Nükleoporinler

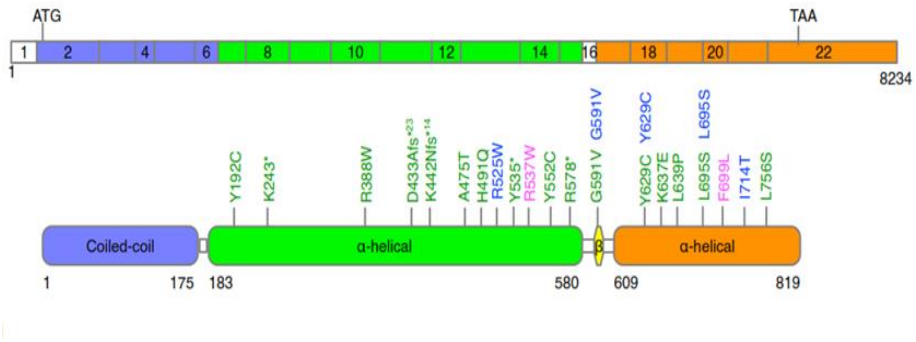
Ökaryotik hücrelerde, nükleer gözenek kompleksi (NPC) nükleer zarf üzerinde bulunur ve sitoplazma ile çekirdek arasında taşıma için bir kanal görevi görür (19). NPC'ler, bir merkezi taşıma kanalı etrafında sekizgen simetri içinde düzenlenmiş yaklaşık 30 farklı nükleoporinden(NUP) toplanır (147, 148). Bir NPC üç alt kompleksten oluşur: NUP107/NUP160 kompleksi tarafından oluşturulan bir döngü, NUP93 kompleksi tarafından oluşturulan bir

çekirdek yapı iskelesi ve NUP62 kompleksi tarafından oluşturulan bir iç yapı.(20) NUP107/160 kompleksi, dokuz NUPS'den (NUP160, NUP133, NUP107, NUP96/98, NUP85, NUP43, NUP37, SEH1 ve SEC13) oluşan Y şeklinde bir kompleks halinde birleştirilir (149, 150). Hücre biyolojisindeki merkezi rolleri göz önüne alındığında, NUP'lar viral enfeksiyon, kanser ve nörodejeneratif hastalık dahil olmak üzere çok çeşitli insan hastalıklarıyla ilişkilendirilmiştir (151, 152). Çoğu NUP, nükleer ve sitoplazmik yüzlerde asimetrik nükleoporinlerle süslenmiş simetrik bir çekirdek oluşturan NPC'de simetrik olarak dağılmıştır. Birçok nükleoporin, FG tekrarları adı verilen fenilalanin ve glisin kalıntılarıyla zenginleştirilmiş düzensiz tekrarlayan diziler içerir (153).

2.3.1. Nükleoporin-93 (NUP-93)

NPC'ler, nükleer zarf boyunca nükleositoplazmik taşınmaya aracılık eden sekizgen bir kanal oluşturur. Hücrelerde bulunan en büyük moleküllerden biridir (154, 155). NPC'lerin insanlarda yaklaşık 120 MDa'lık moleküler kütleleri vardır ve nükleoporinler adı verilen farklı nükleer gözenek proteinlerinin birden fazla kopyasından oluşturulurlar (156). NPC'ler, nükleositoplazmik taşımadaki rollerine ek olarak, gen ekspresyonunu ve DNA onarımını düzenleyen kromatin organizasyonunda da rol oynar (157). NUP genlerindeki genetik değişiklikler, bağışıklık, kardiyovasküler veya nörolojik anormalliklerle sonuçlanan farklı hücresel ve gelişimsel kusurlarla bağlantılıdır (157). NUP-93, moleküllerin çekirdek ve sitoplazma arasında aktif taşınmasında işlev gören nükleer gözenek kompleksinin kritik bir alt birimidir (21). NUP-93, NPC'lerin birleşmesi için gereklidir ve NPC'lerin her iki kısmını da birbirine bağlar (158). Nataraj ve arkadaşlarının (159) yaptığı çalışmada meme kanserlerinde NUP93 rolünü ve transkripsiyon faktörlerinin nükleositoplazmik taşınmasını nasıl etkilediği incelenmiştir. NUP93'ün aşırı ekspresyonu, tümör büyümesini ve metastazı artırarak kanser hücrelerinin agresif özellikler kazanmasına katkıda bulunmuştur (159). Braun ve arkadaşlarının (160) yaptığı çalışmada NUP93, NUP205 ve XPO5 genlerindeki mutasyonların SDNS'ye neden olduğu saptanmıştır. Bu mutasyonlar nükleer por kompleksi yapısında değişikliklere sebep olmuştur. NUP93 mutasyonlarının ve bunlarla

ilişkili bozuklukların dağılımı Şekil-6'da gösterilmiştir. NUP93'ün işlev kaybı, NPC montajının ve podosit fonksiyonunun bozulmasına yol açmıştır. NUP93 ve XPO5, SMAD4 sinyal proteinleri ile etkileşime girmektedir. NUP93 mutasyonları, SMAD4 ile bu etkileşimi kesintiye uğratmıştır (Şekil-7). Bu mutasyonlar, BMP7-indüklenmiş SMAD transkripsiyonel aktivitesini bozmuştur. Bu durum, SDNS'nin patogenezinde anormal TGF-ß/SMAD sinyalleşmesinin önemli bir rol oynadığını göstermiştir. 2016 yılında 3 ailesel SRNS vakasında NUP-93'te (p.Gly591Val veya p.Tyr629Cys) homozigot mutasyonlar tanımlanmıştır. Bu çalışmada, NUP-93'ün fetal sıçan böbreğinde podositlerde eksprese edildiğini ve bazı mutasyonların, podositlerde nükleer zarf boyunca lokalizasyonunda kusurla sonuçlandığını gösterilmiştir. NUP-93 ve diğer NUP ile ilişkili moleküller, kemik morfogenetik protein-7'ye bağımlı SMAD sinyal yolunu düzenler ve p.Lys442Asnfs*14, p.Gly591Val ve p.Tyr629Cys dahil olmak üzere NUP-93'teki bazı mutasyonların bu sinyali ortadan kaldırdığı rapor edilmiştir. Başka bir çalışmada NUP93'ün yokluğu ya da hasarlı olması sebebiyle, podosit göçünde bozulma ve podositlerin çoğalmasının azalmasına ve oksidatif strese karşı direncin azalmasına neden olduğu gösterilmiştir (160). Son araştırmalar, NUP-93'ün resesif varyantlarının insanlarda nefrotik sendromun nedeni olduğunu göstermektedir (161).

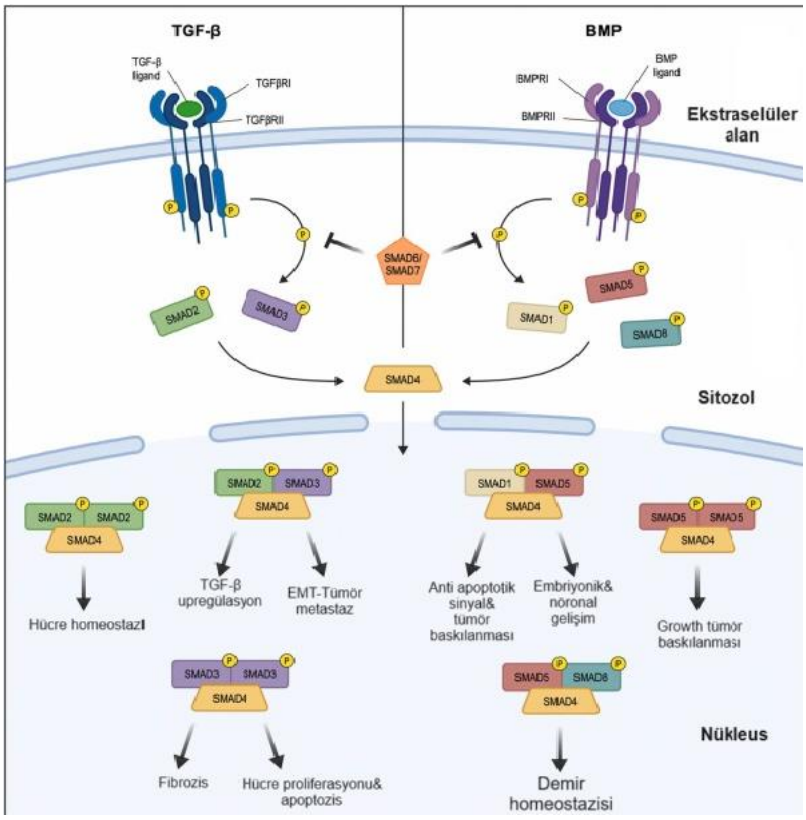


Şekil-6: NUP93 mutasyonlarının ve bunlarla ilişkili bozuklukların dağılımı. NUP93 geninin ve NUP93 proteininin ekzon yapısının şematik diyagramı, steroide dirençli nefrotik sendrom (yeşil), fokal segmental glomeruloskleroz (mavi) ve ilerleyici olmayan konjenital ataksi ile sonuçlandığını gösteren mutasyonlara sahiptir (162).

NUP-93 mutasyonları ve hastalıkları ve hastalıkları Tablo-5'te gösterilmiştir

Tablo-5: NUP-93 mutasyonları ve hastalıkları (162).

Nükleoporin	Nükleotid değişikliği	Aminoasit değişikliği	Hastalık
NUP93	c.1162C > T	p.R388W	SRNS
OMIM 614351	c.1772G > T	p.G591V	MIM 616892
	c.1326delG	p.K442Nfs*[14]	SRNS
	c.1772G > T	p.G591V	
	c.1537 + 1G > A	del exon13	SRNS
	c.1772G > T	p.G591V	
	c.1772G > T	p.G591V	SRNS
	c.1886A > G	p.Y629C	SRNS
	c.1772G > T	p.G591V	SRNS
	c.1916 T > C	p.L639P	
	c.1537 + 1G > A	Splice site variant	SRNS
	c.1772G > T	p.G591V	
	c.1298delA	p.D433Afs*23	SRNS
	c.1772G > T	p.G591V	
	c.1573C > T	p.R525W	FSGS
	c.1886A > G	p.Y629C	MIM 603278
	c.575A > G	p.Y192C	SRNS
	c.1605C > G	p.Y535*	
	c.727A > T	p.K243*	SRNS
	c.2137-18G > A	Intronic	
	c.1609C > T	p.R537W	CA
	c.2097 T > G	p.F699L	
	c.1655A > G	p.Y552C	SRNS
	c.1732C > T	p.R578*	
	c.2084 T > C	p.L695S	SRNS
	c.2267 T > C	p.L756S	
	c.1423G > A	p.A475T	SRNS
	c.1909A > G	p.K637E	SRNS
	c.1473 T > G	p.H491Q	SRNS
	c.1538-6A > G	Intronic	
	c.2141 T > C	p.I714T	FSGS
	c.1772G > T	p.G591V	FSGS
	c.2084 T > C	p.L695S	



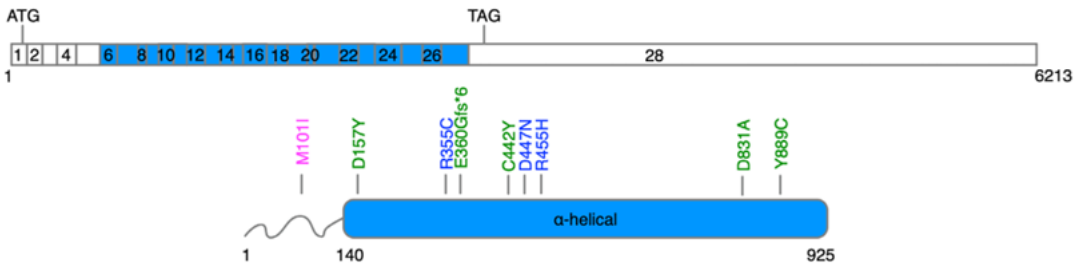
Şekil-7: TGF-β ve BMP sinyal yolunun SMAD kompleksleriyle birlikte şematik gösterimi (163).

2.3.2. NUP107

Nükleer Gözenek Kompleksi, işlevsel önemi ve karmaşıklığı büyük ilgi çeken büyüleyici bir yapıdır. NPC'de birkaç farklı alt kompleks, yüksek düzeyde korunmuş ve kararlı bir yapı oluşturmak için birbirleriyle etkileşime girer. Bu alt komplekslerden biri de NUP107 kompleksidir. NUP107 kompleksine, NPC birleşiminden mRNA taşınması ve hücre farklılaşmasına kadar çok çeşitli işlevler atfedilmiştir (164). Son yıllarda NPC'ye olan ilgi, nükleositoplazmik taşımadaki rollerinin yanı sıra, gen ekspresyonunun düzenlenmesi, epigenetik ve heterokromatin düzenlemesi, DNA onarımı gibi diğer birçok hücresel süreçte yer alması nedeniyle ortaya çıkmıştır (165). NUP107 kompleksi NPC'nin merkezi yapısında bulunur. NUP107 kompleksi dokuz alt birimden (NUP37, NUP43, NUP85, NUP96, NUP107, NUP133, NUP160, SEH1 ve SEC13) oluşur (166, 167). NUP107 kompleksi, mitozda NPC biyogenezinin erken dönemlerinde önemli bir oyuncudur (168). NUP107

kompleksinin bileşenleri, interfazdaki NPC'lerle stabil bir şekilde ilişkilidir, bu da bunların NPC yapısal iskelesinin bir parçası olduğunu gösterir (169). NUP107, çocuklarda fokal segmental glomerüloskleroz (FSGS) ile birlikte otozomal resesif steroid dirençli nefrotik sendrom (SRNS) ile ilişkili yeni bir gendir. SR-FSGS'li çocuklarda NUP107 mutasyonlarının sıklığı bilinmemektedir. NUP107, tüm ökaryotik hücrelerde önemli bir protein olan nükleer gözenek kompleksinin bir bileşeni olan 107-kDa nükleoporini (NUP107) kodlar. SR-FSGS'li Koreli çocuklarda NUP107 mutasyonlarının görülme sıklığını belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada insidans beklenmedik derecede yüksek bulundu (23). Başka bir çalışmada NUP107 mutasyonlarının insanlarda erken başlangıçlı SRNS'ye neden olduğunu gösterildi (Tablo-6). NUP107 mutasyonlarından etkilenen bireylerde genellikle 2-3 yaşlarında SRNS gelişti ve 10 yaşından önce son dönem böbrek yetmezliğine ilerledi ancak böbrek nakli sonrasında hastalıkta herhangi bir nüksetme görülmediği bildirildi. NUP107 mutasyonları olup etkilenen bireylerde , yetersiz NUP107 fonksiyonu; hipoplastik podositlere veya doğumdan sonra artan filtrasyon basıncıyla birlikte işlevsel olarak bozulmuş podositlere neden olabilir (170).

NUP107 mutasyonlarının ve bunlarla ilişkili bozuklukların dağılımı Şekil-8'de gösterilmiştir.



Şekil-8: NUP107 geninin ve NUP107 proteininin mutasyonlu ekson yapısının şematik diyagramı, steroide dirençli nefrotik sendrom (yeşil), Galloway-Mowat sendromu (pembe) ve gonadal disgenezi (mavi) gösteriliyor (126).

Tablo-6: NUP107 mutasyonları ve hastalıkları (126).

Nükleoporin	Nükleotid değişikliği	Aminoasit değişikliği	Hastalık
NUP107	c.469G > T	p.D157Y	SRNS
OMIM 607617	c.2492A > C	p.D831A	MIM 616730
	c.969 + 1G > A	Splice-site variant	SRNS
	c.2492A > C	p.D831A	
	c.1079_1083del	p.E360Gfs*6	SRNS
	c.2492A > C	p.D831A	
	c.2492A > C	p.D831A	SRNS
	c.1325G > A	p.C442Y	SRNS
	c.303G > A	p.M101I	GAMOS MIM 618348
	c.303G > A	p.M101I	GAMOS
	c.2666A > G	p.Y889C	SRNS
	c.1339G > A	p.D447N	Over disgenezi
	c.1063C > T	p.R355C	Prematür ovaryen yetmezlik ile hipergonadotropik hipogonadizm
	c.1604G > A	p.R455H	Prematür ovaryen yetmezlik

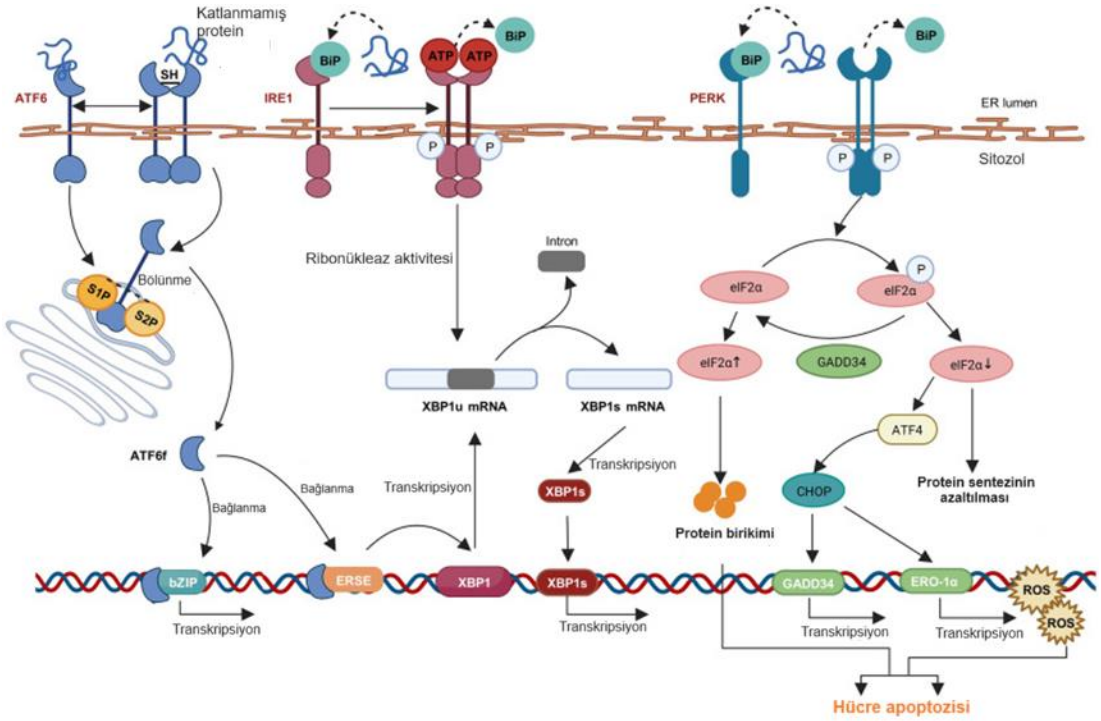
3. Endoplazmik Retikulum Stresi

Ökaryotik hücrelerdeki en büyük organellerden biri olan endoplazmik retikulumun(ER), ana işlevleri şunlardır: hücre içi proteinlerin sentezi, proteinlerin modifikasyonu ve işlenmesidir. Endoplazmik retikulumun, kompleks ve kapalı hücre içi tübüler intimal sistemlerin iç içe geçtiği üç boyutlu, miktar, tür ve morfoloji açısından dinamik bir ağ yapısı vardır (13). ER, hücrede üretilen proteinlerin sentezinde, katlanmasında ve yapısal olgunlaşmasında önemli bir rol oynar (14). Hücreden salgılanan proteinlerin çoğu, yolculuğuna ER'de başlar. Ribozomlarda sentezlenen proteinler, ER zarına yönlendiren bir N-terminal sinyal dizisine sahiptir. Bu proteinler translokasyona tabi tutulur ve translasyonu tamamlanan polipetidin sinyal dizisi bir proteaz tarafından çıkarılır. ER lümenine girdikten sonra, proteinler benzersiz üç boyutlu şekillerine katlanmalı, glikosilasyon ve disülfid bağ oluşumu dahil olmak üzere çeşitli translasyon sonrası modifikasyonlara maruz kalmalıdır. Bu işlemler, şaperonlar, glikozilleyici enzimler ve oksidoredüktazlar gibi ER'de bol miktarda bulunan enzimler tarafından katalize edilir (171, 172). ER'nin iyonik ortamı protein katlama aktiviteleri için idealdir. Sitosol ile karşılaştırıldığında ER, çok daha yüksek bir kalsiyum konsantrasyonunu ve daha fazla oksitleyici redoks içerir (173). Hücreler, ER'nin işlevlerini sürdürmek için büyük miktarda enerji harcar. Şaperonlar, proteinlere bağlanarak onların nihai doğal konformasyonlarına giden yolda üç boyutlu yapısının devamlılığını sağlanması

için yanlış katlanmalardan koruyarak işlevsel bütünlüğünü sağlamaya çalışırlar (174). Çoğu zaman protein katlanması, glikosilasyon işlemi yoluyla şekerlerin proteinlere kovalent olarak eklenmesini ve kırpılmasını da içerir. Bu enzimatik işlemler, proteinlerin uygun şekilde katlanmasını, değiştirilmesini ve multiprotein komplekslerine birleştirilmesini sağlar (16). Yeni oluşan proteinler, ER'de bulunan moleküler şaperonların ve katlama enzimlerinin yardımıyla katlanır ve yalnızca doğru şekilde katlanmış proteinler Golgi aygıtına taşınır. Katlanmamış veya hatalı katlanmış proteinler ER'de tutulur, ER ile ilişkili protein yıkım mekanizması tarafından sitoplazmada retro-translokasyona tabi tutulur ve proteazom tarafından parçalanır. Hücreler, ER-ilişkili protein yıkım mekanizmasının kapasitesini aşan miktarlarda proteinler sentezlendiğinde, katlanmamış proteinler ER'de birikir. Katlanmamış proteinler, proteinin içinde bulunması gereken ve protein agregatları oluşturma eğiliminde olan hidrofobik amino asit kalıntılarını açığa çıkarır. Protein agregatları o kadar toksiktir ki apoptotik hücre ölümüne neden olurlar. Böyle stresli bir durumu (ER stresi) hafifletmek için ökaryotik hücreler, toplu olarak ER stres tepkisi veya katlanmamış protein tepkisi olarak adlandırılan bir dizi kendini savunma mekanizmasını aktive eder (175–177). ER stresi, hem fizyolojik hem de patolojik olarak ER'de katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinlerin birikmesi olarak tanımlanır. Katlanmamış/yanlış katlanmış proteinlerin bu birikimine yanıt olarak hücreler, katlanmamış protein yanıtı (UPR) yoluyla stresli koşullara uyum sağlar (178).

3.1. ER Stresi İçin Yanıt Yolları

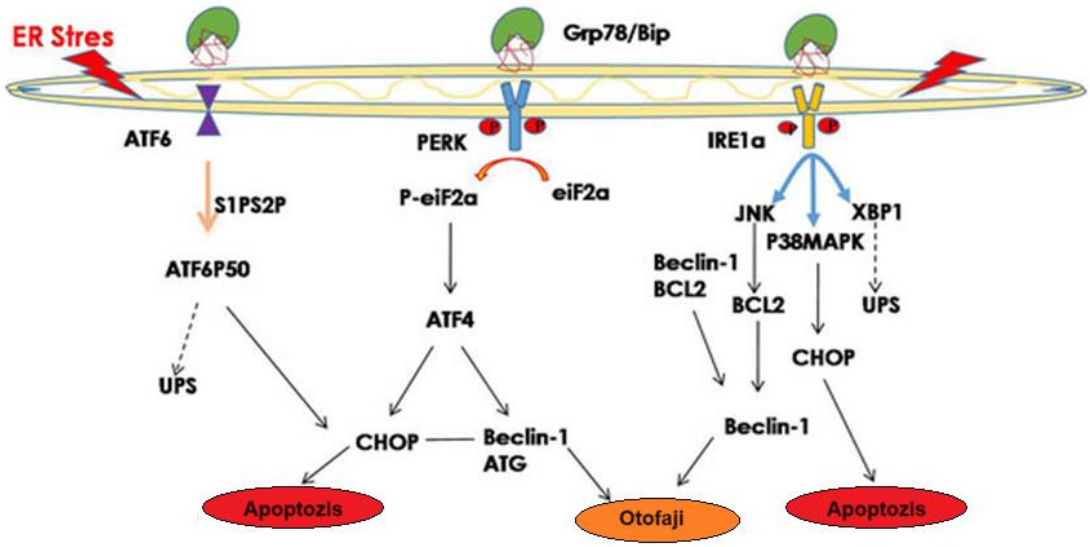
Memeli ER stres tepkisi dört mekanizmadan oluşur. Birincisi, katlanmamış proteinlerin daha fazla birikmesini önleyen protein sentezinin zayıflamasıdır. İkincisi, katlama kapasitesini arttırmak için ER şaperon genlerinin transkripsiyonel indüksiyonu, üçüncüsü ER ile ilişkili protein yıkım mekanizmasının yeteneğini arttırmak için ER ile ilişkili protein yıkım mekanizmasının bileşen genlerinin transkripsiyonel indüksiyonudur. Dördüncüsü, organizmanın hayatta kalmasını sağlamak için ER stresi nedeniyle zarar gören hücrelerin güvenli bir şekilde imha edilmesi için apoptozun indüklenmesidir (15).



Şekil-9: Katlanmamış protein yanıt sinyal yolları. ATF4:Aktive edici transkripsiyon faktör 4, eIF2α: Ökaryotik translasyon başlatma faktörü 2α, CHOP: C/EBP-homolog protein, PERK: PKR benzeri ER kinaz, ATF6: Aktive edici transkripsiyon faktör 6, IRE1: inositol gerektiren enzim 1, XBP1:X-box binding protein 1, ERAD:ER-associated degradation, bZip: Temel lösin Zipper transkripsiyon, GADD34: büyüme durdurma ve DNA hasarına neden olabilen protein 34, ERO-1α: endoplazmik retikulum oksidoredüktaz1 alfa (179)

Endoplazmik retikulumda yanlış katlanmış ve katlanmamış protein birikimi, PERK, ATF6 ve IRE1 üzerindeki BıP bağlanmasının yerini alacak ve bunla ATF4 daha sonra CHOP ile etkileşime girer ve bu GADD34, ERO-1α gibi hedef genlerin ifadesini kontrol eder. GADD34, eIF2α yönlendirmeli bir fosfataz kompleksinin düzenleyici bir alt birimini kodlar ve bu da eIF2α'nın defosforilasyonunu gerçekleştirir ve protein sentezini yeniden sağlar. PERK yolu sonucunda hücre apoptozisine yol açabilir. ER stresi altında, IRE1 dimerize olarak aktive olur. PERK, eIF2α' nın fosforilasyonuna neden olur. Bu da ER protein birikiminin azalmasına ve ATF4 mRNA'nın translasyonuna yol açar. Aktive edilmiş IRE1, XBP1'in bir intronunu keser ve bu kesilmiş parçayı eklenmiş XBP1'e dönüştürür. XBP1'ler çekirdeğe taşınır ve burada gen translasyonunu kolaylaştırır. ER stresiyle karşı karşıya kalan ATF6 golgi

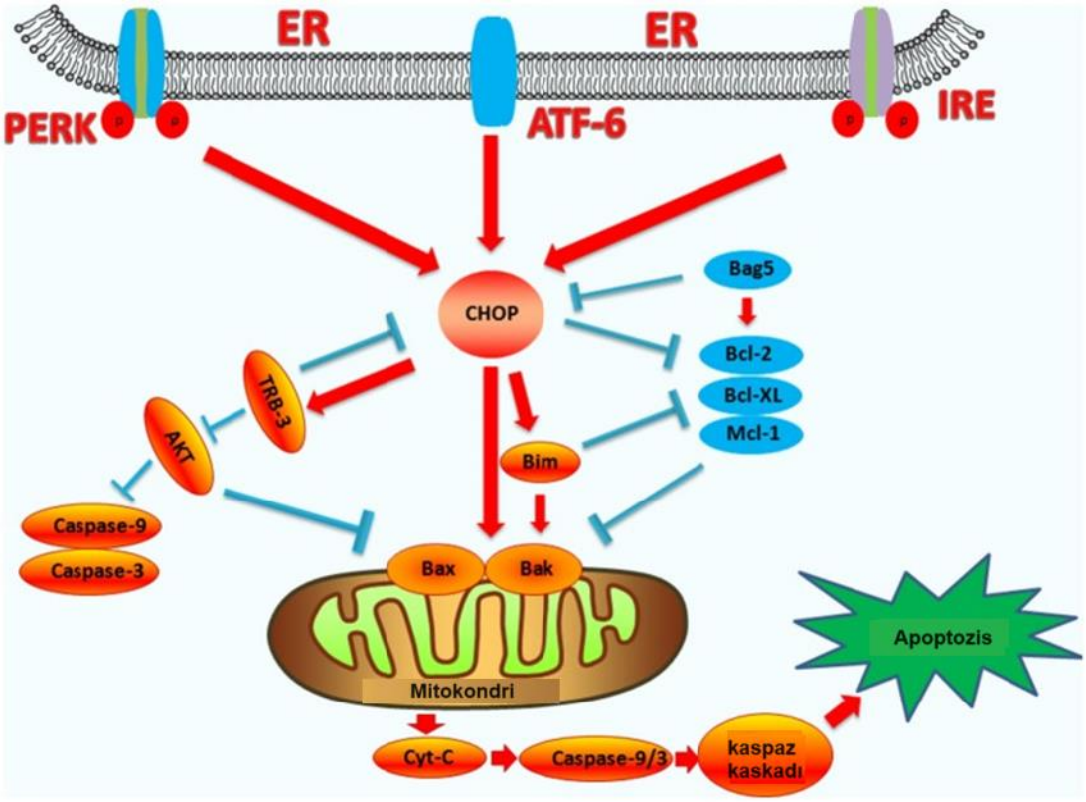
aygıtına taşınır ve Site-1 (S1P) ve Site-2 (S2P) proteazları tarafından bölünür. Bölünmeden sonra ATF6, bZip ve XBP1'in temel transkripsiyonu gibi ERAD bileşenlerini kodlayan genleri doğrudan kontrol eden sitozolik bir fragman salar (Şekil-9) (179).



Şekil-10: ER stresi ve bozunma yolları (180)

ER stresi oluştuğunda, ER'nin işlevini eski haline getirmek için UPR etkinleştirilir ve ER stresini bastırmak için UPS ve otofaji etkinleştirilir. Ancak yine de ER'nin işlevini yerine getiremezlerse hücre ölümü meydana gelebilir. ER stresi ile Kronik ER stresi nedeniyle, terminal UPR, esas olarak CHOP, JNK ve kaspaz-12'nin aracılık ettiği bol miktarda sinyal mekanizması yoluyla apoptozu tetikleyecektir. Proteinlerin yanlış katlanması ve agregat oluşturması, hücresel onarım ve temizleme süreçlerinin başarısız olduğu durumlarda, özellikle moleküler CMA (Chaperone-Mediated Autophagy) ve UPS (Ubiquitin-Proteasome System) yetersiz kaldığında, stres altında otofaji tarafından temizlenir (181). Genel olarak ER stresi IRE1 ve PERK sinyal yoluyla otofajiyi indükler. Aşağı akış faktörü JNK, IRE1 sinyal yoluyla aktive edilir ve ER stresi sırasında otofajiyi daha da teşvik eder (182). Fosforile edilmiş IRE1 ayrıca MAPK8/JNK1/MAPK9/MAPK10 yolunu aktive eder ve böylece otofajiyi yukarı düzenler. PERK sinyal yolu ER stresi sırasında aktive

olur ve onun aşağı akış faktörü eIF2a fosforile olurken, fosforile edilmiş eIF2a DNA hasarını aktive eder. Ek olarak, PERK'in alt akış faktörü olan ATF4, hücre içinde otofaji ile ilgili genlerin ifadesini düzenleyen bir transkripsiyon faktörü olarak görev yapabilir (Şekil-10) (180).



Şekil-11: CHOP'un endojen yol kaynaklı apoptozdaki işlevleri (183).

CHOP, BCL-2, BCL-XL, MCL-1'in inhibisyonu ve BAX-BAK aracılı mitokondriyal dış membran geçirgenliğini düzenleyen BIM'in düzenlenmesi yoluyla içsel apoptotik yolu tetikler. Bu sitokrom c salınımına ve kaspaz kaskadına yol açar. Bag5, CHOP ifadesini azaltabilir ve Bcl-2 gen ifadesini artırabilir. CHOP ayrıca kaspaz-3/9 aktivitesini inhibe eden Akt fosforilasyonunu önleyerek TRB3 geninin ekspresyonunu yukarı doğru düzenleyerek hücrelerin apoptozunu da düzenleyebilir (Şekil-11) (183).

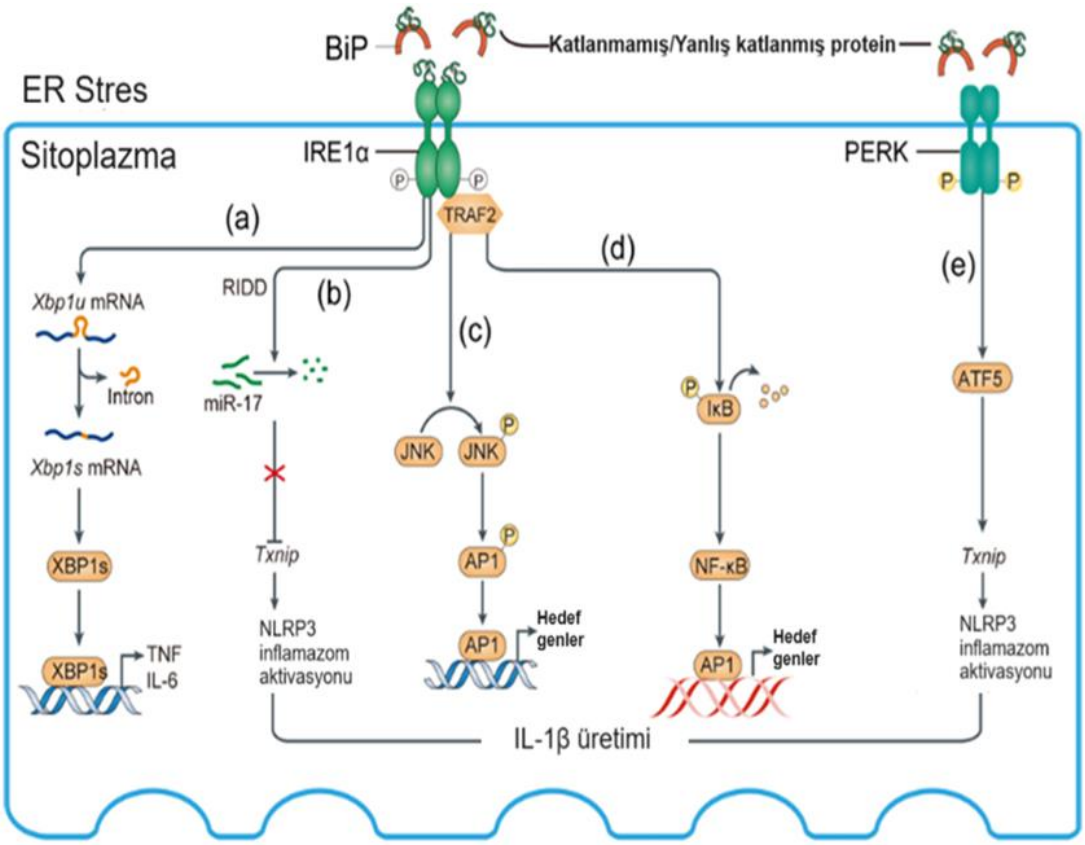
Uzun süreli aktif IRE, c-Jun N-terminal kinaz (JNK) yolu ve TNF-reseptörle ilişkili faktör 2 molekülünün (TRAF2) görevlendirilmesi yoluyla kinaz aktivitelerini indükler. IRE1-TRAF2 kompleksi, apoptoz sinyali düzenleyici kinazın (ASK1) görevlendirilmesine neden olur ve bu da MAPK'ler JNK ve p38'i

aktive eder. Farklı stres koşullarında JNK aktivasyonu Bcl2 ailesi üyelerinin düzenlenmesiyle ilişkilidir. ER stresi sırasında JNK, Bcl2'yi fosforile eder ve anti-apoptotik fonksiyonunu inhibe eder, ancak JNK Bcl-2 homoloji alanı 3 (BH3) ve Bim'i fosforile ederken bunların pro-apoptotik özellikleri aktive olur. IRE1, ASK1 ve JNK yoluyla hücrede hayatta kalma veya hücre ölümünün modülasyonu için en üst adımdır (184).

Kaspaz 12 ve onun polimorfik varyantı kaspaz 4, endoplazmik retikulum (ER) stresinin neden olduğu apoptoz sürecinde kritik bir rol oynar. Kaspaz 12, mitokondriyal apoptotik yola ait olan pro-kaspaz-9'u sitokrom-c salınımı olmadan aktive eder. Sitoplazmik kalsiyum tarafından aktive edilen proteaz kalpain, kaspaz-12'nin bölünmesi yoluyla aktive edebilir. Ayrıca, IRE1a da kaspaz-12'yi doğrudan aktive edebilir. Kaspaz-12, hücrede apoptoza bağlı gen-2 proteini ve p97'yi içeren yüksek molekül ağırlıklı bir kompleks olarak bulunur. P97, kaspaz-12'nin bu proapoptotik stabilizasyonunda çok önemli bir rol oynar. Kaspaz-12 etkinleştirildiğinde, kaspaz-9 ve kaspaz-7 gibi aşağı yöndeki kaspazları etkinleştirir ve sonuçta kaspaz-3'ü etkinleştirilir ve böylece apoptoz yürütme aşaması başlar (185).

Fizyolojik koşullar altında, dönüştürücüler BiP'ye bağlıdır ve inaktiftir. Stres altında yanlış katlanmış veya açılmamış proteinlerin birikmesi, BiP'yi dönüştürücülerden ayırır ve aynı anda onları aktive eder (186). Daha sonra, güçlü bir transkripsiyonel aktivatör kodlayan eklenmiş Xbp1 , IRE1 aracılı diziye özgü kesme yoluyla kesilir. IRE1a ve PERK aktivasyonu, inflamatuar aktivasyonu indükler (Şekil-12). IRE1a aktivasyonu ve ardından X-box bağlayıcı protein 1'in (Xbp1) eklenmesi, tümör nekroz faktörü (TNF) ve interlökin-6'nın (IL-6) destekleyicilerine doğrudan bağlanan transkripsiyon faktörü XBP1'leri üretir (Şekil-12). Stressiz koşullarda miR-17'yi baskılayan Txnip seviyesini artıran RIDD-bağımlı miR-17 yıkımı, Txnip seviyesini artırır. NLRP3 inflamazom aktivasyonunu ve IL-1β ifadesini artırır. Aktive edilmiş IRE1a, Jun N-terminal kinazın (JNK) fosforilasyonunu ve aktifleştirilmiş aktivatör protein 1 (AP1) yoluyla proinflamatuar genlerin yukarı regülasyonunu indüklemek için TNF reseptörüne bağlı faktör 2 (TRAF2) ile bir kompleks oluşturur. IRE1α–TRAF2 kompleksi IκB kinazını (IKK) çeker; ardından IκB'nin

fosforilasyonu ve yıkımı, nükleer faktör-κB (NF-κB)'nin nükleer translokasyonu için serbest bırakır. BiP, bağlayıcı immünoglobulin proteini olarak görev yapar. Txnip, inflamatuar aktivasyonu indüklemek için PERK ,ATF 5 yolu tarafından indüklenebilir. BiP'den ayrıldıktan sonra, UP aracılığıyla PERK fosforilasyonu, Txnip gibi hedef genleri de içeren ATF 5'i aktive eder ve böylece podositler gibi böbrek hücrelerinde iltihaplanmayı tetikler (Şekil-12). PERK aynı zamanda makrofaj immünsüpresyonunda da rol oynar ve hedefleri arasında ATF4, ATF5 ve TXNIP bulunur (187).



Şekil 12: ER stresinin neden olduğu inflamasyonun mekanizmaları (187).

IRE1, memelilerdeki işlevleri arasında şunlar bulunur; IRE1, ER stresi durumunda ER şaperonlarının sentezini artırır. Bu şaperonlar, hücre içinde protein katlanmasını düzenler ve yanlış katlanmış proteinleri düzeltebilir. IRE1 ayrıca yanlış katlanmış proteinlerin düzeltilmesi mümkün değilse, onları hızla parçalayan protein bozunum yollarının verimliliğini artırır. IRE1, lipid sentezi için gereken bazı enzimleri artırabilir. IRE1 hücre içindeki protein dengesini

düzenleyerek ER stresi durumunda yardımcı olur. ATF6, benzer şekilde hücre içindeki koruyucu şaperonların ifadesini artırır. Aynı zamanda memeli Hac1 homologu olan XBP1 seviyelerini yükselterek UPR sinyalini güçlendirir. PERK, ER stresi durumunda redoks enzimlerinin seviyelerini artırır. Bu enzimler, hücre içindeki oksidatif stresi azaltmaya yardımcı olur. PERK ayrıca ER stresi sırasında protein çevirisini yavaşlatır. Bu, hücrenin yanlış katlanmış proteinlerin birikmesini önlemesine yardımcı olur. İlk olarak, IRE1 aktive edildiğinde ve RIDD yolu etkinleştiğinde, proapoptotik transkripsiyon faktörü DR5 için transkriptin yıkımı gerçekleşir. Ancak ER stresi çözülmezse, PERK seçilen faktörlerin çevirisinin yeniden başlatılmasını sinyal verir. Bu faktörler arasında proapoptotik faktör CHOP da bulunur ve bu da DR5'in sentezini artırır. Sekretuar yolundaki yanlış katlanmış protein birikimi, DR5'e bağlanarak doğrudan proapoptotik olayların başlamasına neden olabilir.

3.2. Böbrek Hastalığında Endoplazmik Retikulum Stresinin Yeri

ER stresi; Alzheimer, Parkinson ve Huntington hastalıkları gibi konformasyonel hastalıklar gibi hatalı katlanmış proteinlerin birikmesiyle ilişkili hastalıklarda patojenik bir rol oynar. Ayrıca ER stresi, kanser, kardiyak ve serebral iskemi/reperfüzyon hasarı, diyabet ve ateroskleroz dahil olmak üzere çok çeşitli diğer durumlarla da ilişkilidir (188–190) . Bu ilişkiler, ER stresinin yeni patojenik etken olarak önemini vurgulamaktadır. Bu sürecin diğer hastalıkların patogenezi ve ilerlemesiyle ilişkili olabileceğini göstermektedir. Yapılan bazı çalışmalar, böbrek hastalığında ER stresinin patofizyolojik önemini ortaya koymaktadır (191, 192).

NS'nin konjenital başlangıçlı hastalarının neredeyse %100'ünde ve infantil başlangıçlı hastaların %44'ünde gen mutasyonları vardır; steroide dirençli pediatrik NS hastalarında genel mutasyon tespit oranı %52 kadar yüksektir (193). FSGS, böbrek yetmezliğine yol açan en yaygın NS ve glomerüler hastalıktır. Geçtiğimiz yıllarda insan genetiğindeki ufuk açıcı ilerlemeler, insan NS/FSGS hastalarında keşfedilen 30'dan fazla mutasyona uğramış podosit geni ile NS'yi birincil podositopati olarak tanımlamıştır (194). Elde edilen bulgular, genetik faktörlere bağlı olarak podosit ER stresinin ve işlev bozukluğunun NS/FSGS'nin patogenezinde önemli bir rol oynadığını

göstermektedir. Hücre kültürü çalışmalarında, Liu L. ve arkadaşları, Finlandiya tipi otozomal resesif doğuştan NS'e neden olan birçok nephrin missense mutasyonunun muhtemelen yanlış katlanma nedeniyle ER içinde sıkıştığını göstermektedir (195). Benzer şekilde Ohashi ve arkadaşları da, podosinin R138Q mutasyonu, otozomal resesif tip steroid dirençli NS ile neden olan NPHS2'deki en yaygın missense mutasyonlarından biri olup ER'de tutulduğunu bildirmiştir (196).

Tip IV kolajen, altı zincirden oluşur: α1'den α6'ya kadar olan zincirler, kromozom 2, 13 ve X üzerindeki üç çift gen tarafından kodlanır. Altı farklı α zinciri, üç farklı üçlü sarmal heterotrimerik protomer oluşturacak şekilde düzenlenir: (α1)2α2, α3α4α5 ve (α5)2α6, bunlar ER'de gerçekleşir. Salgılanan protomerler, kolajen ağları oluşturmak için polimerleşir (197). Glomerülojenezin erken aşamalarında, (α1)2α2 ağı, GBM, Bowman kapsülü ve mezangial matrisin bir bileşenidir. Normal glomerülojenez sırasında, (α1)2α2 ağının çoğu GBM'de α3α4α5 ile ve Bowman kapsülünde (α5)2α6 ile değiştirilirken, (α1)2α2, GBM'nin subendotelyal bölgesinde ve mezangial matrisinde kalır . Farelerde yapılan deneyler, podositlerin, ancak endotel hücrelerinin α3α4α5 ağını sentezlediğini göstermiştir (198). Alport sendromu (AS) ve ince bazal membran hastalığı, glomerüler bazal membrandaki tip IV kollajenin yapısal anormalliklerden kaynaklanan kalıtsal böbrek hastalıklarıdır. Her iki durum da tipik olarak hematüri ile ortaya çıksa da AS proteinüri, ilerleyici böbrek yetmezliği ve ekstrarenal sendromlarla ilişkilidir (199). Kollajen mutasyonlarının yetişkin FSGS hastalarının altında yatan en sık mutasyonlar olduğu bulunmuştur (200).

Otozomal dominant polikistik böbrek hastalığı sırasıyla integral membran proteinleri polikistin-1 (PC1) ve PC2'yi kodlayan PKD1 veya PKD2'deki mutasyonlardan kaynaklanır. ER yerleşik proteinler SEC63 ve XBP1'in polikistik hastalık şiddetini değiştirebildiği gösterilmiştir (201). Proteinlerin doğru şekilde katlanması, değişikliklerinin yapılması ve kalite kontrolü, HSP70, HSP40, HSP90, kalneksin/kalretikülin ve protein disülfür izomerazları gibi çeşitli şaperon sistemleri tarafından düzenlenir. SEC63, HSP40 protein ailesine ait bir üyedir ve yeni polipeptitlerin katlanması,

değişikliklerinin yapılması ve sonraki taşıma için ER lümenine eşzamanlı çeviri yoluyla aktarıldığı bir kanal olan SEC61 translokon kompleksiyle ilişkilidir (202). Farelerde yapılan genetik modeller, SEC63 eksikliğinin UPR'nin IRE1α-XBP1 dalını seçici olarak etkinleştirdiğini ve bu durumun bir telafi mekanizması olduğunu göstermiştir. Ayrıca, XBP1 aktivasyonunun PC1'in işlevsel biyogenezini artırabileceği ve PC1 fonksiyonu azalmış bir fare modelinde kistik hastalığı iyileştirebileceği bulunmuştur. SEC63 ve XBP1'in birlikte inaktive edilmesi, farelerde polikistik böbrek fenotipini şiddetlendiren bir etki gösterir. Bu etki, PC1'in G proteinine bağlı reseptör proteolizi bölgesindeki bölünmeyi baskılayarak PC1 olgunlaşmasında kritik bir rol oynar. SEC63 fonksiyonunun IRE1α/XBP1 aktivasyonunu düzenlediği ve XBP1 aktivasyonunun PC1'in bozulmuş biyogenezinde polikistik hastalığa karşı koruma sağlayabileceğini gösteren sonuçlar oldukça önemlidir (201).

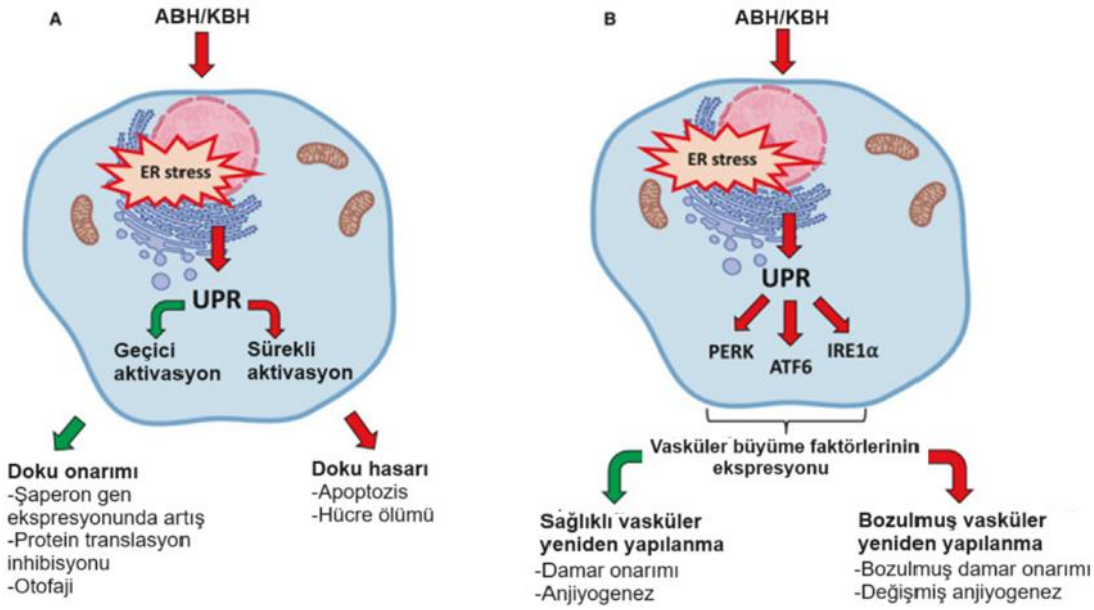
Tübüler ER stresi ve otozomal dominant tübülointerstisyel böbrek hastalığı(ADTKD) kronik böbrek hastalığına yol açan renal tübülointerstisyel fibrozisin monogenik bir formudur. Otozomal dominant tübülointerstisyel böbrek hastalığına UMOD , MUC1 , REN ve HNF1B'deki mutasyonlar neden olur (203). ADTKD- UMOD, hiperürisemi, gut, idrar konsantrasyonundaki değişiklikler ve ilerleyici böbrek fonksiyonu kaybı ile karakterizedir (204). Uromodulin (Tamm-Horsfall protein), Henle kulpunun kalın yükselen kolunun epitelyal(TAL) hücreleri tarafından eksprese edilir. İnsan olgun uromodulin, temel olarak TAL hücrelerinin apikal plazma zarında yer alır. Bu protein, bir sinyal peptidi, üç EGF benzeri alan, işlevi bilinmeyen bir merkezi alan, bir zona pellucida alanı ve bir glikozilfosfatidilinositol (GPI) bağlama bölgesi içerir (204). In vitro ve in vivo çalışmalar, UMOD mutasyonlarının TAL hücrelerinde proteinin yanlış katlanmasına, ER tutulmasına ve ER stres aktivasyonuna neden olabileceğini göstermiştir (205–207).

Glomerüler filtrasyon bariyerinin önemli bileşenleri olan podositler, glomerülosklerozgelişiminde önemli bir rol oynar. Yapılan bazı çalışmalarda, membranöz nefropati (208, 209) sıçanlarda nefrotik sendrom (210) ve fokal segmental glomerülosklerozu (211) modellerinde podositlerde ER stresinin indüklendiğini tanımlamıştır. Nakajo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada NS

sırasında sıçan glomerüllerinde ER stresinin mevcut olduğu bildirilmiştir. Nefrotik aralıktaki proteinüri, podositlerde GRP78 ekspresyonunu arttırdı ve glomerüler filtrasyon bariyerinin önemli bir bileşeni olan nefrinin hatalı bir şekilde sitoplazmaya yerleşimine neden oldu. Bu sonuçlar, proteinürinin neden olduğu podosit hasarının ER ile ilişkili olduğunu göstermektedir.(210) Mesanjio-proliferatif glomerülonefritin bir sıçan modelinde mesanjiyal hücrelerde UPR yolunun indüksiyonu, ER şaperonlarının indüksiyonu ve PERK-eIF2a yoluyla translasyon zayıflaması ile karakterize edilmiştir (192). Hayvan modellerinde ER stresi, glomerulopatilerin gelişiminde ve ilerlemesinde rol oynamaktadır (212). Ayrıca yapılan bir çalışmada diyabetik nefropatide ER stresinin indüklendiğini gösterilmiştir. ER stresi, glomerüler hücrelerde GRP78 ekspresyonunun artmasına ve kaspaz 12, JNK yollarıyla apoptotik UPR aktivasyonuna yol açıyor (213).

UPR'nin geçici aktivasyonu çoğunlukla vasküler onarımı ve doku iyileşmesi ile yeni damar oluşumunu teşvik eden hayatta kalma yanlısı bir etkiyi korur. Tersine doku hasarı uzun sürdüğünde sürekli UPR aktivasyonu, vasküler yeniden yapılanmada bozulma, hücre ölümü ve doku dejenerasyonunu teşvik eder (214).

ER stresi/UPR aktivasyonunun, geçici veya sürekli olarak, doku iyileşmesini veya yaralanmayı ve sağlıklı ya da bozulmuş vasküler yeniden şekillenmeyi nasıl modüle ettiği Şekil-13'te gösterilmiştir



Şekil-13: ER stresi/UPR geçici veya sürekli aktivasyonu, sırasıyla doku iyileşmesini/yaralanmayı ve sağlıklı/bozulmuş vasküler remodellemeyi modüle eder. A, Akut zararlar (AKI), doku iyileşmesine katkıda bulunan geçici bir UPR uyarır. Bunun karşısında, CKD gibi kronik zararlar, dokuların zarar görmesine neden olan sürekli bir UPR uyarımına yol açar. B, AKI veya CKD'ye bağlı ER stresi durumunda, UPR vasküler büyüme faktörlerinin ekspresyonunu modüle etmede rol oynar. Vasküler büyüme faktörü ekspresyonunun modülasyonu, geçici veya sürekli UPR aktivasyonu durumlarında sağlıklı veya bozulmuş vasküler remodellemeyi sürdürür (214).

3.3. Endoplazmik Retikulum Stres Proteinleri

3.3.1. Aktive Edici Transkiripsiyon Faktör 6 (ATF6)

ATF6, ER stres tepkisinde intramembran proteoliz ile aktive edilen ER membranına bağlı transkripsiyon faktörüdür. ATF6, luminal alanı katlanmamış proteinlerin algılanmasından sorumlu olan transmembran proteinidir. ATF6'nın sitoplazmik kısmı, bazik lösin fermuar motifini (bZIP) ve transkripsiyonel aktivasyon alanını içeren bir DNA bağlama alanına sahiptir. ER stresinin yokluğunda bağlayıcı protein ATF6'nın luminal alanına bağlanır ve Golgi lokalizasyon sinyalini engelleyerek ATF6 translokasyonunun inhibisyonuna yol açar (215–217). Proteinlerin doğru bir şekilde katlanması karmaşık bir süreçtir ve birçok faktör bu süreci etkileyebilir. Bu faktörler arasında oksidatif stres, glikolizasyon inhibisyonu, hipoksi, enfeksiyonlar gibi etkenler bulunur. Bu stres durumları, ER protein katlanma kapasitesini azaltabilir ve bu da düzgün bir

şekilde katlanmamış proteinlerin birikmesine yol açabilir. Bu durum, hücresel işlevlerde bozulmalara neden olabilir. Bu nedenle, protein katlanma sürecinin düzenli ve etkili bir şekilde gerçekleşmesi, hücresel işlev açısından kritik öneme sahiptir (218). ER stresine maruz kalan hücreler, bu stresi azaltmak ve hücresel homeostazı yeniden sağlamak için UPR (Katlanamamış Protein Yanıtı) yolağını aktive eder. UPR, ER'de katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinlerin birikmesi durumunda devreye giren bir hücresel yanıt mekanizmasıdır. UPR, hücrenin protein sentezi, katlanması ve yıkımını düzenlemek için çeşitli sinyal yollarını harekete geçirir. Bu sayede hücre, ER stresini azaltmaya çalışır ve normal işlevine geri dönmeye çalışır. UPR, hücrenin ER stresi altındayken hayatta kalmasına ve hasarı en aza indirmesine yardımcı olur (219). UPR'de, üç ER yerleşimli transmembran protein aktive edilir. Bu üç sensör proteini şunlardır: IRE-1 (İnositol Gerektiren Enzim 1), PERK (Pankreatik Endoplazmik Retikulum eIF2 Kinaz) ve ATF6 (Aktive Edici Transkripsiyon Faktör 6). Bu proteinler, ER stres sinyallerini algılar ve bu sinyalleri hücresel yanıtları başlatmak için ileterler. Sonuç olarak, UPR tarafından başlatılan süreçler arasında transkripsiyon faktörlerinin üretimi, moleküler şaperonların indüksiyonu, fosfolipit sentezi ve apoptozis (programlanmış hücre ölümü) yer alır. Bu mekanizmalar, ER stresini hafifletmek ve hücresel homeostazı yeniden sağlamak için uyarılır (16). Katlanmamış proteinlerin birikmesine yanıt olarak bağlayıcı protein ATF6'dan ayrışır ve ATF6 veziküler taşıma yoluyla Golgi aygıtına taşınır. Golgi aygıtında ATF6, bölge 1 proteaz (S1P) ve bölge 2 proteaz (S2P) olarak adlandırılan proteazlar tarafından sırayla yarılır ve ortaya çıkan ATF6'nın sitoplazmik kısmı çekirdeğe geçer. Çekirdekte ER stres tepki elementine (ERSE) bağlanır ve bağlayıcı protein ER şaperon genlerinin transkripsiyonunu aktive eder. Sonuç olarak bu proteinlerin sentezi artar ve ER katlama kapasitesi yükselerek strese karşı korunma sağlanmaya çalışılır (17). Yapılan çalışmalar proteinüri ve böbrek yetmezliğinin ilerlemesinde podosit hasarının önemli bir rolü olduğunu vurgulamaktadır (220). Podositler iyi gelişmiş bir Golgi sistemi, belirgin lizozomlar, birçok mitokondri ve bol miktarda endoplazmik retikulum içerir (221). Hücre gövdesindeki bu organellerin yoğunluğu, podositlerin yüksek

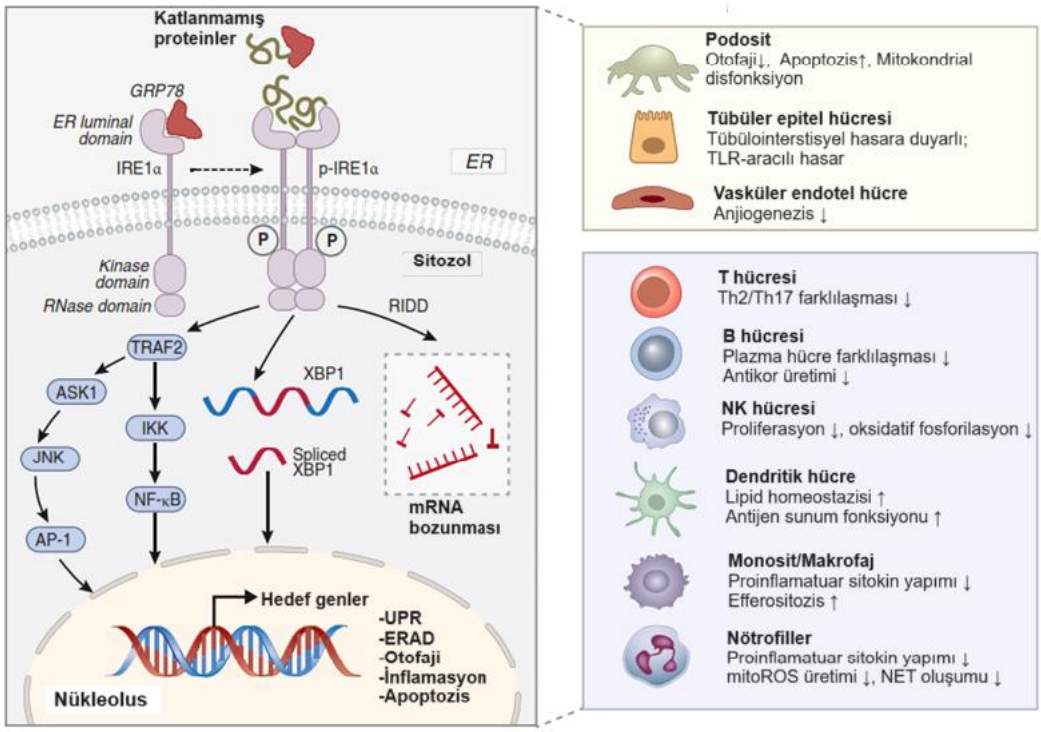
düzeyde anabolik ve katabolik aktivitesini gösterir. Bizi podositlerin ER stresine duyarlılığını araştırmaya teşvik eder. Podositlerin ER stresine karşı adaptif tepkileri çok önemlidir çünkü podositler çoğalamayan, terminal olarak farklılaşmış hücrelerdir. Bu hücrelerin kaybı glomerüloskleroz ve son dönem böbrek yetmezliğine yol açabilir (222, 223). Mostafa ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada kronik böbrek hastalarında ATF6 ve IRE1 gen ekspresyonunda anlamlı bir artış tespit edildi (224). Yapılan başka bir çalışmada, ER stres artışının, katlanmamış protein agregatlarının geniş üretimini indüklediğini, bununla birlikte ATF6 ve kaspaz-12'nin yukarı doğru regüle edildiği saptandı (225). Yuan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ATF6'nın aşağı regülasyonunun ER stresini azalttığı, renal fibrozisi iyileştirebileceği gösterildi (226). Kandemir ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Oksidatif stres tarafından tetiklenen ER stresini,tedavisi sonrasında ATF-6 PERK, IRE1 ve GRP78 ekspresyonlarının baskılanmasıyla hafifletildiği gözlemlendi (227).

3.3.2. Inositol Gerektiren Enzim-1 (IRE-1)

IRE1, ER membranında lokalize olan tip I transmembran bir endonükleazdır. IRE1'in luminal alanı katlanmamış proteinlerin algılanmasında rol oynar; sitoplazmik alan ise bir kinaz alanı ve bir RNaz alanı içerir. IRE1'in iki izoformu bulunur IRE1α ve IRE1β. ER stresi üzerine, IRE1 aktivasyonunun bağlayıcı protein (BiP) baskılaması serbest bırakılır. IRE1 dimerizasyon ve transfosforilasyon yoluyla aktive edilir (228, 229). IRE1α ribonükleaz, X-box bağlayıcı protein-1 (XBP1) mRNA'daki 26 nükleotidlik bir intronu seçici olarak uzaklaştırır; eklenmiş XBP1 mRNA, ER şaperon ve otofaji genlerinin transkripsiyonunu aktive etmek için çekirdeğe yer değiştiren bir transkripsiyon faktörünü (XBP1'ler) kodlar. Bu, ER katlama kapasitesini arttırır ve otofajiyi teşvik edebilir (230). IRE-1, ER membranlarında yer alan mRNA'ları parçalayarak ER lümenlerine giren protein miktarını azaltır. Bu rolü sayesinde IRE1, ER stresini azaltma işlevini yerine getirir (231). Kaufman ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada IRE1α'nın podosit spesifik delesyonu olan farelerde genişlemiş glomerüller, kılcal damarlarda ödem ve anormal kollajen

birikimi görüldü (232). Liang ve arkadaşlarının çalışmasında renal arter klemplenmesiyle oluşturulan bir iskemi/reperfüzyon fare modeli kullandı. I/R, farelerde böbrek yetmezliğine ve tübül yapısında hasara yol açtı; bu durum, IRE1 veya JNK'nin inhibisyonu ile iyileştirildiği, I/R, renal tübüler ER stresini indüklerken, IRE1 veya JNK'nin inhibe edilmesi ER stresini azalttığı, IRE1/JNK glomerüler mesangial hücrelerin ve hücre dışı matris sekresyonunun uzun vadeli I/R hasarına bağlı proliferasyonunu düzenlediği saptandı (233). Luo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada resveretrol verilen sıçanlarda renal tubuler şişmeyi ve lümen daralmasını belirgin şekilde hafiflettiği IRE1 düzeyini azalttığı görüldü (234).

Bazal koşullar altında, IRE1a, ER'de bulunan şaperonlar tarafından baskılanır. Stresli koşullar altında, katlanmamış proteinler GRP78'in transmembran stres sensörü IRE1a'dan ayrılmasına neden olur ve katlanmamış protein yanıtı, IRE1a'nın oligomerizasyonuna ve fosforilasyonuna yol açar; böylece, IRE1a aktive olur ve RNaz domaini uyarılır. Uyarılmış RNaz aktivitesi, eklenmemiş X-box bağlayıcı protein-1 (XBP1) mRNA'sını keser ve XBP1'in eklenmesi, stres adaptasyonu ve hücre hayatta kalması ile ilgili geniş bir yelpazedeki genlerin ifadesini artırabilen güçlü bir transkripsiyon faktörü olan eklenmiş XBP1 üretimine yol açar. IRE1a RNaz aktivitesi, düzenlenmiş IRE1a-bağımlı yıkım (RIDD) olarak bilinen bir mekanizma yoluyla mRNA ve miRNA yıkımına da katkıda bulunur. Fosforile edilmiş IRE1a (p-IRE1a), tümör nekroz faktörü reseptörü ile ilişkili faktör 2 (TRAF2) ile etkileşime girerek IRE1a-TRAF2 kompleksini oluşturur. Bu kompleks, apoptoz sinyal düzenleyici kinaz 1 (ASK1) ve c-Jun N-terminal kinaz (JNK) ile etkileşime girerek aktivatör protein-1 (AP-1) sinyalini aktive eder. IRE1a-TRAF2 kompleksi ayrıca inhibitör kB kinaz (IKK) ile etkileşime girerek nükleer faktör (NF)-kB aracılı inflamatuvar yolu da aktive edebilir (Şekil-14) (235).



Şekil-14: IRE1a sinyal ağı ve böbrek parankimal hücreleri ile bağışıklık hücrelerindeki işlevlerinin şematik gösterimi (235).

3.3.2.1. IRE1'in Kritik Rolleri

3.3.2.1.1. Podositler ve IRE1α

Podositler, glomerüler filtrenin seçicilik özelliklerini koruması için gerekli olan farklılaşmış hücrelerdir. IRE1α, podositlerin homeostasisi için gereklidir (236). Yaşlı erkek farelerde podositlere özel olarak IRE1α molekülünün olmadığı durumlarda yapılan çalışmalar şunları göstermiştir: Yaşa bağlı olarak podosit hasarı, otofaji bozukluğu, mitokondri yapısında ve işlevlerinde bozulma, anti-glomerüler bazal membran nefriti ve doksorubisin (Adriamycin) nefrozuna karşı daha fazla hassasiyet (237). Kaufman ve ark. ayrıca IRE1α'nın optimal otofagosom oluşumu için vazgeçilmez olduğunu ve mekanizmanın muhtemelen IRE1α aracılı otofaji ile ilişkili genlerin regülasyonunu içerdiğini göstermiştir (232). Podositlerde IRE1α sinyallemesinin hem XBP1-bağımlı hem de XBP1-bağımsız yolları içerdiği görülmektedir. XBP1 delesyonu, başlangıçta podosit ve glomerül anormalliğine dair bir kanıt göstermese de, yüksek kan şekeri veya proteinlerin doğru katlanması için gerekli bir chaperon olan Sec63 proteinin yokluğu ile

indüklenen ER stresi varlığında podosit apoptozisini ve glomerüler hasarı arttırmıştır (238, 239).

3.3.2.1.2. Vasküler endotel hücrelerinde IRE1α

Böbrek vasküler endotelinde IRE1α'nın rolü üzerine az sayıda çalışma yapılmıştır; böbrek hastalıklarında endotelyal IRE1α'nın aktivasyon durumu bilinmemektedir. Kardiyovasküler hastalık modelleri üzerine yapılan çalışmalar bozuk kan akışının, angiotensin II aktivasyonunun ve oksidatif stresin endotel hücrelerinde (EC'ler) UPR sinyallemesini aktive edebileceğini ve persistent ER stresinin endotelyal disfonksiyona neden olduğunu göstermektedir (240). İskemik dokularda, IRE1α veya XBP1'in baskılanması EC'lerin proliferasyonunu inhibe eder ve EC-spesifik XBP1 eksikliği olan farelerde angiogenez bozukluğu görülür (241). Diğer taraftan, XBP1'in sürekli aktivasyonu EC apoptozisine neden olabilir ve Beclin-1'in transkripsiyonel kontrolü yoluyla otofaji yolunu aktive edebilir (242). Bu nedenle, böbrek vasküler endotelinin bütünlüğünün ve yenilenmesinin fonksiyonel IRE1α-XBP1 sinyallemesine ihtiyaç duyduğunu söylemek mantıklıdır.

3.3.2.1.3. IRE1α'nın böbrek iskemik hasarı ve transplant reddindeki potansiyel rolü

Böbrek iskemik hasarı, akut tübüler nekroz, inflamatuar immün hücrelerin infiltrasyonu ve böbrek fonksiyonunun bozulması ile karakterize olup, çözülmezse fibroza yol açabilir. IRE1α'nın ve onun altındaki genlerin, örneğin XBP1s, fare modellerinde iskemi sonrası böbreklerde arttığı gözlemlenmiştir (243,244). İlk olarak IRE1α aracılı UPR muhtemelen tubuler epitelyal hücrelerelerin apoptozunun artmasına ve akut tübüler nekroza neden olur (245). İkincisi podositler, tübüler hücreler ve endoltelyal hücrelerle karşılaştırıldığında iskemik hasara daha az duyarlı olmasına rağmen, uzun süreli iskemi yarık diyafram proteinlerinin ayrışması yoluyla podosit silinmesine neden olur ve uzun vadede fibrozise yol açar (246). Kısa dönemde IRE1α , otofaji ve mitokondriyal yollarla podosit bütünlüğünü ve proteostazı korumada sitoprotektif bir rol oynayabilir (237).

3.3.2.2. IRE1α'yı hedefleyen potansiyel tedavi yöntemleri

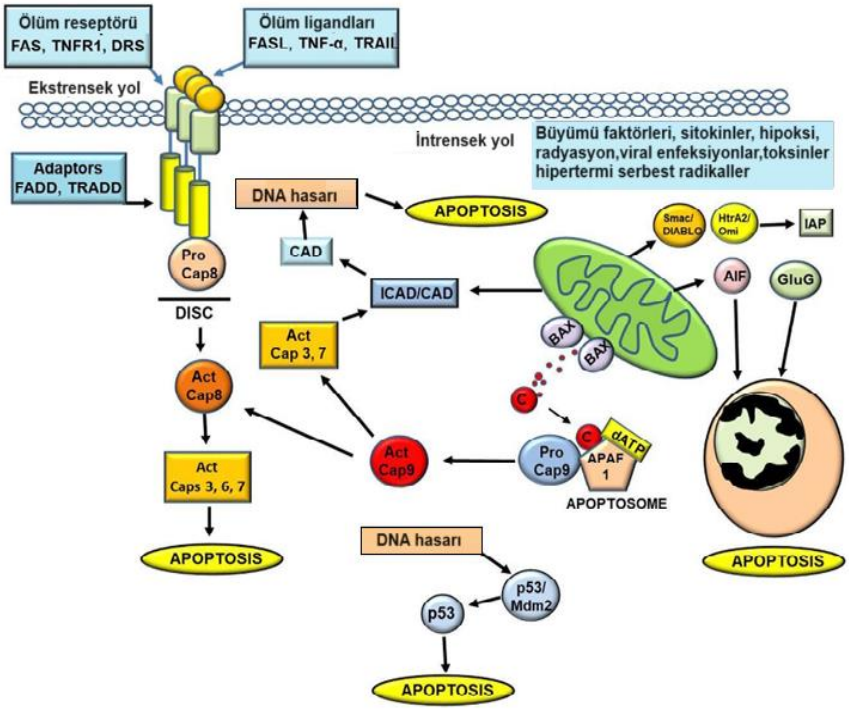
Çoğu IRE1α inhibitörü IRE1α'nın sitoplazmik kinaz ve endonükleaz enzimatik aktivitesini hedef alarak geliştirilmiştir. Toyokamisin, STF-083010, 4μ8c, MKC-3946, OICR573, OICR464 ve MKC-8866 gibi RNaz-spesifik IRE1α inhibitörlerinin hücre çoğalmasını baskıladığı ve kemoterapi ilaçları ile birlikte etki gösterdiği bulunmuştur (247). IRE1α endonükleaz domaininin inhibisyonu38 veya kinaz domaininin inhibisyonu39 ile XBP1 eklenmesinin engellenmesi, multipl myeloma hücrelerinin çoğalmasını önemli ölçüde azaltmış ve farelerde multipl myelomanın deri altı veya ortopedik metastatik büyümesini engellemiştir. Kinaz-spesifik IRE1α inhibitörleri arasında trierixin ve kinotrierixin bulunur. Özellikle ORIN1001 (selektif bir IRE1α RNaz inhibitörü) şu anda idiopatik pulmoner fibrozis hastaları (tanımlayıcı: NCT04643769) ve ileri solid tümörler ile nüks eden refrakter metastatik meme kanseri hastalarında (tanımlayıcı: NCT03950570) test edilmektedir. Bu inhibitörlerin kullanımıyla IRE1α'yı hedeflemek, böbrek iskemik hasarı ve reddi tedavisinde umut verici bir strateji gibi görünmekte olup, daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır (248,249). Bununla birlikte, IRE1α'yı hedeflemek iki ucu keskin bir kılıç olabilir çünkü inflamasyonu baskılarken parankimal hücre yenilenmesini bozabilir. Bu nedenle, hedef dışı etkileri en aza indirmek için stratejilerin ince ayarlanması gerekir. Örneğin Feldman ve arkadaşları (250). IRE1a RNaz'ın kısmi antagonistlerinin, IRE1a kinaz alanındaki sarmal aC'yi orta derecede değiştirdiğini, yıkıcı ER mRNA endonükleolitik bozulmayı bastırırken XBP1 mRNA eklemesini koruduğunu ve onu UPR yolunun ince ayarı için umut verici bir ilaç adayı haline getirdiğini bildirilmiştir (250).

4. Apoptozis ve Aşamaları

Apoptoz, artık ihtiyaç duyulmayan veya organizma için tehdit oluşturan hücrelerin ATP'ye bağımlı, enzim aracılı, genetik olarak programlanmış ölümüdür. Apoptoz, hücre iskeleti (proteazlar tarafından) ve DNA (endonükleazlar tarafından) parçalandığında ortaya çıkar. Her ikisine de

kaspazlar aracılık eder (7,8). Ölen hücreler, hücre iskeletinin kaspazlar tarafından parçalanması nedeniyle küçülür. Hücreler eozinofilik hale gelir. Hücre komşularından uzaklaşır ve hücreler arası temasını kaybeder. Ölen hücrenin çekirdeği bazofilik hale gelir. Ayrıca, hücrenin kromatini yoğunlaşır ve piknotik bir görünüm alır. Apoptozun bu aşamasında hücrenin çekirdeği çözülür. DNA, düzenli olarak aralıklı büyüklükte kısa parçalara ayrılır. Bu parçalara karyoreksis denir. Ardından, yoğunlaşmış sitoplazma ve çekirdek, apoptotik cisimler adı verilen parçalara ayrılır. Apoptotik cisimler, hücreden koparak makrofajlar tarafından temizlenir. Makrofajlar, apoptotik cisimleri fagositize ederek onları vücuttan uzaklaştırır. Apoptotik hücrelerin aksine, nekrotik hücreler iltihaplanmaya neden olur. Nekrotik hücreler, hücre zarının bozulmasına neden olan şiddetli hasar nedeniyle ölür. Bu, hücrenin içeriğinin dokulara salınmasına ve iltihaplanmaya neden olur. Apoptoz, çevre dokulara zarar vermeden gerçekleşir. Bu durum apoptozun, nekrozun aksine hücresel homeostaziyi korumak için önemli bir mekanizma olmasını sağlar (251, 252). Apoptoz, perforin/granzyme yolunun yanı sıra ekstrinsik ve intrinsik yollarla da aktive edilebilir. Ekstrinsik yol, sitoplazmada ölüm bölgelerine (adaptörlere) bağlı yüzey reseptörlerinin ligandları tarafından aktive edilmesini içerir. Bu reseptörler, pro-kaspaz 8'e bağlandığında, DISC (ölüm indükleyici sinyal kompleksi) oluşturarak aktif kaspaz 8 üretir. Aktif kaspaz 8 ise kaspaz 3, 6 ve 7'yi aktive ederek apoptozu indükler. İntrinsik yol mitokondrileri içerir. Büyüme faktörlerinin etkisi, oksidatif stres, toksinler, radyasyon, hipoksi, hipertermi ve viral enfeksiyonlar gibi çeşitli koşullar mitokondriyal yol üzerinden apoptozu indükleyebilir. Bu koşullar, mitokondri iç zarını değiştirerek mitokondriyal geçirgenlik geçiş porunun açılmasına, mitokondriyal zar potansiyelinin kaybına ve pro-apoptotik proteinler olan Bax gibi proteinlerin ifadesine neden olur, bu da pro-apoptotik moleküllerin salınımını sağlar. Bu moleküller, kaspazların yürütücü unsur olarak kullanılıp kullanılmamasına göre kaspaz bağımlı veya kaspaz bağımsız olabilir: kaspaz bağımlı olanlar: sitokrom c, Smac/DIABLO ve serin proteaz HtrA2/Omi; kaspaz bağımsız olanlar: AIF, endonükleaz G ve CAD. Sitokrom c, Apaf-1 ve pro-kaspaz 9 ile bağlanarak kaspaz 9'u aktive eden bir apoptozom oluşturur. Kaspaz 9, mitokondri tarafından üretilen CAD

üzerinde etkili olan kaspaz 8, 3 ve 7'yi aktive eder ve CAD'ı inhibitöründen serbest bırakarak DNA hasarı ve apoptozu indüklemesini sağlar. Smac/DIABLO ve serin proteaz HtrA2/Omi, apoptoz inhibitörleri aktivitesini inhibe ederek apoptozu indükler. Hem AIF hem de endonükleaz G, çekirdeğe taşınarak DNA'yı keser ve kaspazlara bağımlı olmadan apoptozu indükler. Mitokondrinin pro-apoptotik ve anti-apoptotik moleküllerin salınımına ilişkin kontrol ve düzenlemesi, p53 tarafından yönetilir. DNA hasarı ve diğer stres sinyalleri, p53'ün Mdm2'den ayrılmasına ve apoptozu indüklemesine neden olabilir (Şekil-15) (253).



Şekil-15: Apoptoz mekanizmaları (253).

4.1. Apoptoz Mekanizması

Apoptoz, hücrenin kendi genlerinin aktivasyonu ya da çevreden gelen uyaranlarla başlamaktadır. Hücre dışı uyaranlar arasında; koloni uyarıcı faktörler (CSF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) , tümör nekroz faktörü (TNF), nöron büyüme faktörü (NGF) , glukokortikoidler, IL–2 gibi maddelerin ortamda azalması, ilaçlar, radyasyon, çeşitli antijenler önemli yere sahiptir.

Otoimmun hastalık oluşumunda rol oynayan faktörler arasında Fas/FasL sistemi, sFas proteinleri ve bazı virüslerin (örneğin, HIV gp120 proteini ve influenza virüsü) hücreyi apoptozise götürme yeteneği bulunmaktadır. Apoptozis gelişimine etkisi olan hücrenin iç uyaranları arasında hücre içi kalsiyum miktarında artış, sitokinler, P53 aktivasyonu, tümör nekroz faktör, onkojenlerin (cmyc gibi) yer aldığı bilinmektedir (9, 254, 255). Apoptozis süreci, üç farklı mekanizma üzerinden gerçekleşebilir:

DNA Hasarına Genlerin Yanıtı: Hücre içinde meydana gelen DNA hasarı, apoptozisin tetikleyicisi olabilir. Bu hasar, hücrenin DNA onarım mekanizmaları tarafından düzeltilmezse, apoptozis sinyallerini başlatan genler aktive olabilir.

Hücre Membranı Tarafından Ölüm Sinyallerinin Alınması (Fas Ligandı): Hücrenin dışındaki Fas ligandı adı verilen moleküller, özellikle bağışıklık sistemi hücreleri tarafından salgılanır. Fas ligandı, özellikle hedef hücrelerin yüzeyinde bulunan Fas reseptörleri ile etkileşime girer. Bu etkileşim, hücrenin apoptozis yolunu tetikler ve hücre ölümünü başlatır.

Hücreye Doğrudan Proteolitik Enzim Girişi (Granzim): Bu mekanizma, bağışıklık sistemi hücreleri, özellikle doğal öldürücü hücreler (NK hücreleri) ve sitotoksik T lenfositleri tarafından kullanılır. Bu hücreler, hedef hücrelere doğrudan proteolitik enzimler, özellikle granzimleri salgılar. Granzimler, hedef hücre içine nüfuz eder ve hücrenin apoptozisini başlatmak için hücresel bileşenlere zarar verir.

Bu üç farklı mekanizma, apoptozisin başlamasına yol açan farklı yolları temsil eder ve hücrenin programlanmış ölümünü tetikler (256). Apoptoz sürecinde üç temel bileşen belirgin rol oynar. Bu bileşenler; Kaspazlar, Bcl–2 ailesi proteinleri ve Apaf-1 (Apoptotic protease activating factor-1) proteinidir. Bunların biyokimyasal aktiviteleri, çekirdek zarı kırılması, apoptozda izlenen mitokondriyal hasar, kromatin yoğunlaşması, DNA fragmentasyonu ve apoptotik maddelerin şekillenmesini içeren değişikliklerden sorumludur (257). İki ana apoptoz yolu vardır. Bunlar extrensek veya ölüm reseptör yolu ve intrensek veya mitokondriyal yoldur. Apoptoz sürecindeki bu iki yol, hücrenin ölüm mekanizmasını düzenleyen ve kontrol eden birbirine bağlı iki önemli

yoldur. Bu yollar arasındaki etkileşimler, hücrenin apoptozisine ve ölüm sürecinin düzenlenmesine katkıda bulunur (258).

4.1.1. Ekstrinsik Apoptotik Yolak

Apoptozun dışsal yolunu veya ölüm reseptörü (DR) yolunu başlatan süreç, doğal öldürücü hücreler veya makrofajlar gibi bağışıklık hücrelerinin, hedef hücre zarındaki ölüm reseptörlerine bağlanmasıdır. Bu bağlanma sonucunda, bu bağışıklık hücreleri ölüm ligandları üretirler. Üretilen bu ölüm ligandları, hedef hücrede prokaspazın (proenzim formundaki kaspazlar) aktivasyonunu başlatır. Özellikle, kaspaz 8 bu süreçte önemli bir role sahiptir ve prokaspaz 8, aktivasyonu tetikleyerek apoptozun dışsal yolunu başlatır. Bu yol, hücre ölümünü düzenleyen ve apoptozu başlatan önemli bir mekanizmadır (259). DR'ler, tümör nekroz faktörü (TNF) süper ailesinin üyeleridir ve her DR'nin karşılık gelen bir ölüm ligandına sahip olduğu birkaç üye içerir (260). Kaspaz 8'in aktive edilmesi, bir ölüm ligandının ölüm reseptörüne (DR) bağlanması gerektirir. Bu bağlanma, ölüm reseptöründeki ölüme neden olan (DED) alanı aracılığıyla monomerik procaspaz 8'in ligana bağlı DR'nin sitoplazmik alanında bulunan ölüme neden olan bir sinyal kompleksi (DISC) oluşturmasına yol açar. Bu sinyal kompleksi, kaspaz 8'in aktivasyonunu başlatır. Bu mekanizma, apoptozun dışsal yolunun (DR yolunun) kaspaz 8 aracılığıyla aktive edilmesini sağlar. DISC ayrıca prokaspaz 8'in DISC ile etkileşimini kolaylaştıran FAS ile ilişkli ölüm alanı veya TNF reseptörü(TNFR) ile ilişkili ölüm alanı (TRADD) olarak bilinen adaptör proteini içerir (259). Birkaç prokaspaz 8 monomerinin DISC'te bir araya gelmesi, bu monomerlerin dimerizasyonu ve aktivasyonu ile sonuçlanır. Aktive olan kaspaz 8, iki farklı alt yoldan birini seçerek apoptozun yolunu belirleyebilir. Uyarılan özel alt yol, hücrelerin tip I veya tip II hücreler olarak sınıflandırılmasına bağlıdır (261). Tip I ve tip II hücrelerde kaspaz 8'in aktivasyonu farklı sonuçlar doğurabilir. Tip I hücrelerde: Aktive olan kaspaz 8, uygulayıcı kaspazları uyararak apoptozu doğrudan başlatır. Tip II hücrelerde: Burada, inhibitor of apoptosis proteins (IAP'ler), mitokondrilerden salınan proteinler tarafından inhibe edilmezse, IAP'ler doğrudan kaspaz 8'in aktivasyonunu inhibe edebilir. Bu durumda, kaspaz 8'in apoptozu başlatması için ek sinyallerin varlığı gerekebilir. Bu

nedenle, tip II hücrelerde IAP'lerin, kaspaz 8'in aktivasyonunu inhibe edebileceği ancak mitokondriden salınan proteinlerin bu inhibisyonu kaldırabileceği belirtilir. Bu durumda, kaspaz 8'in apoptozu başlatmak için ek sinyallere ihtiyaç duyulabilir (262). Apoptozun içsel veya dışsal yollar tarafından tetiklenip tetiklenmediğine bakılmaksızın, bunun sıkı düzenlenmesi esastır ve etkili bir şekilde düzenlenememesi korkunç sonuçlara yol açabilir. Örneğin kanserde hücre, çeşitli başlatma mekanizmalarındaki mutasyonlar nedeniyle apoptozu başlatamaz. Hücreler bu dış sinyallere yanıt veremezse, normalde dışsal yolu tetikleyen apoptoz yolu aktive olmayabilir. Bu durum, hücrenin kontrolsüz bir şekilde büyümesine ve bölünmesine neden olabilir. Kontrolsüz hücre büyümesi ve bölünmesi, iyi huylu bir tümörün veya kanser gibi daha ciddi bir hastalığın oluşmasına yol açabilir (263).

4.1.2. İntrinsik Mitokondriyal Yolak

İçsel apoptoz yolunun temel özelliği, hücre içinde başlayan ve reseptör aracılı olmayan bir dizi sinyaldir. Bu yol, hücre içi sinyallerin doğrudan hedeflere etki etmesini içerir ve mitokondriler tarafından başlatılan olayları kapsar. Bu içsel sinyal yolları, hücre içinde çeşitli uyarıcı dizilerini içerir ve apoptoz sürecini başlatır. Bu süreç, hücre içi olaylar yoluyla, özellikle mitokondrilerde ortaya çıkan sinyallerin hücrenin ölümüne neden olmasını içerir. Bu şekilde, reseptör aracılı olmayan içsel sinyal yolları, apoptozun başlamasına ve hücre ölümünün gerçekleşmesine neden olabilir (264). İçsel yolda, uyaranlar doğrudan hücre içinde biyokimyasal değişikliklere yol açan hücre içi sinyaller üretir. Bir uyarıcı mevcut olduğunda, mitokondriyal transmembranın hasar görmesi gerçekleşir. Bu durum, mitokondri zarının bozulmasına ve zarın bütünlüğünün kaybolmasına yol açarak, membran potansiyelinde bir dağılma ve artan geçirgenlik oluşturur. Bu uyarı aynı zamanda, dış zar üzerinde pro-apoptotik faktörlerin sitozole (hücre içi bölgeye) yönlendirilmesine neden olan mitokondriyal geçirgenlik geçiş gözeneği (MPT) oluşumunu tetikler. Özetle, uyarıcı etki, mitokondri zarının hasar görmesi ve MPT oluşumu ile sonuçlanarak, hücre içinde apoptotik sinyal yolunu başlatır (265). Apoptoz sırasında, apoptozom prokaspaz-9'u parçalayarak aktif kaspaz-9'u meydana getirir. Aktif kaspaz-9 daha sonra efektör kaspazı olan

kaspaz-3'ü aktive eder. Bunun yanı sıra, SMAC'lar(küçük mitokondriden türetilmiş kaspaz aktivatörleri) olarak bilinen küçük mitokondriden türetilmiş kaspaz aktivatörleri adı verilen bir protein grubu, sitozolden salındıktan sonra IAP (apoptoz proteinlerinin inhibitörü) adı verilen bir protein ailesine bağlanır. SMAC'ler IAP'yi devre dışı bırakarak apoptozun ilerlemesine izin verir (266). Bu proteinler, apoptozun kaspaz bağımlı yolunda etkili olan proteinlerdir. Ancak, apoptozun kaspaz bağımsız yolunda işlev gören ikinci bir grup protein de bulunmaktadır. Bu proteinler, apoptozu indükleyen faktörler (AIF'ler) olarak bilinir ve kaspazlardan bağımsız apoptotik yolların düzenlenmesinde önemli rol oynarlar (267). AIF'ler (apoptozu indükleyen faktörler), mitokondrinin iç zarına sabitlenir. Bu faktörler, kalsiyuma bağımlı bir proteaz olan kalpain tarafından bölündükten sonra, nükleer lokalizasyon sinyali (NLS) yoluyla çekirdeğe yer değiştirebilir. Bu değişim sonucunda, AIF'ler DNA parçalanmasını ve kromatin yoğunlaşmasını indüklemek üzere çekirdekte etkili olabilirler (268).

4.2. Kaspazlar

Kaspazlar, apoptoz ve inflamasyonda önemli rol oynayan aspartik asit kalıntılarından sonra proteinleri spesifik olarak parçalayan sistein proteazlardır (269). Kaspazlar, normalde sitoplazmada inaktif bir formda bulunan proenzimlerdir. Proteolitik parçalanma süreci sonucunda bu proenzimler aktif hale geçerler ve böylece kaspaz aktivasyon zinciri başlar. Kaspazlar, hücre içi sistein proteaz sınıfından olan (cysteine-dependent aspartate-specific proteases) en önemli moleküllerdir ve kalsiyum bağımsız olarak işlev görürler. Bu kaspazlar, hücre içinde latent (etkin olmayan) proenzimler olarak sentezlenirler ve apoptozun başlaması için gerekli olan kaskad reaksiyonlarda önemli rol oynarlar (270). Kaspazlar fonksiyonlarına göre iki gruba ayrılmıştır: kaspaz-2, -3, -6, -7, -8, -9 ve -10 apoptotik kaspazlar iken kaspaz-1, -4, -5, -11 ve -12 inflamasyonda rol oynar (271). Apoptotik kaspazların aktivasyonu, substratların inaktivasyonu veya aktivasyonunu içeren bir dizi sinyal olayının sonucudur. Bu süreç, hücre içi sinyallemeyi takiben kaspazların aktifleşmesini tetikler. Aktifleşen kaspazlar hücresel bileşenlerin kontrollü bir şekilde yıkılmasına olanak tanıyan sinyal olaylarını başlatır. Bu yıkım süreci, hücrenin

programlanmış ölümü olan apoptozun gerçekleşmesine neden olur. Enflamatuar kaspazların aktivasyonu, aktif proinflamatuar sitokinlerin üretilmesine ve çeşitli iç ve dış etkenlere karşı doğuştan gelen bağışıklık tepkilerinin desteklenmesine neden olur. Bu kaspazlar, inflamasyon sürecinde önemli bir rol oynarlar ve bağışıklık sisteminin yanıt verme yeteneğini artırarak hücresel savunmayı desteklerler. Bu durum, hücrelerin dışsal patojenlere veya zararlı içsel etkenlere karşı savunma mekanizmalarını aktive etmelerini sağlar (272).

4.2.1. Prokaspaz Aktivasyonu

Kaspazların aktivasyonu, üç ana yolla gerçekleşebilir. non-kaspaz proteazları, transaktivasyon ve otoaktivasyon ile proteoliz (273). Prokaspazlar, hücre ölümüne yol açabilen sitoplazmik proteinlerdir. Kendi kendilerini parçalayarak aktif kaspazlara dönüşebilirler. Bu, hücreye zarar veren uyaranlar tarafından tetiklenebilir. Prokaspaz 8 veya 9'un uzun alt birimlerinin bir araya gelmesiyle oluşan oligomerler, otoaktivasyonu kolaylaştırır. Prokaspazlar, otoaktivasyon için gerekli olan oligomerler oluşturmak için bir araya gelir. Aktif kaspazlar, diğer prokaspazları transaktive ederek kaspaz kaskadını başlatır. Kaspaz aktivasyonunun bir başka yolu da non-kaspaz proteazları tarafından doğrudan proteolizdir. Örneğin, sitotoksik T hücre proteinazı granzim-B, aspartat-spesifik serin proteinazı prokaspaz 3 ve 7'yi aktive eder. Granzim-B ek olarak prokaspaz 8, 9 ve 10'un aktivasyonunda da rol oynar (274). Başlatıcı kaspazlar adı verilen moleküller, ölüm sinyallerini alır ve bu sinyalleri efektör kaspazlara ileterek aktive ederler. Efektör kaspazlar, hücrenin iç yapısını oluşturan çeşitli proteinleri keser. Örneğin, hücre iskeletinin yapı taşlarından olan aktin veya fodrin gibi proteinler, ya da lamin A gibi nükleer zar proteinleri ve poli ADP-riboz polimeraz gibi DNA onarımında görev alan proteinler bu süreçte parçalanır. Bu parçalanma sonucunda, hücrenin tipik apoptotik morfolojisi ortaya çıkar ve hücrenin ölümü gerçekleşir. İnaktif (zimojen) formdaki kaspazlar kırılarak aktifleşirler ve dimerize olurlar. Kaspaz aktivasyonu (dimerizasyonu), ya hücre yüzey ölüm reseptörlerinin aktivasyonu, ya da kaspaz 9 bağlayıcı protein olan Apaf-1'in oligomerize olmak üzere indüklenmesi ile gerçekleşir. Kaspaz ailesinin ve kaspaz inhibitorlerinin

keşfi apoptotik hastalıklara terapotik yaklaşımda bizleri cesaretlendirmektedir. Zira farklı kaspazlara spesifik farklı sentetik inhibitörlerin yanı sıra kaspaz aktivasyonunu ya da kaspaz aktivitesini önleyen doğal kaspaz inhibitörleri de bulunmuştur (275). Apoptoz sürecinde, CED-3'e benzer olan kaspaz ailesi ve CED-9'a benzer olan Bcl-2 ailesi önemli roller oynar. Kaspazlar, proteolitik bir zinciri harekete geçirerek hücre ölümünü başlatır. Hem solucanlarda hem de memelilerde, bu temel apoptotik mekanizmalar birbirine oldukça yakındır. Memelilerde, apoptozun çeşitli türlerini düzenleyen temel kontrol merkezi mitokondridir. Bu organel, hücre ölümü sürecinde kritik bir rol oynar (276). Mitokondri, apoptotik sürecin dönüşü olmayan bir aşamasını işaret eder. Bu aşamada, Sitokrom c mitokondriden sitoplazmaya salınır. Bcl-2 ailesi, mitokondri aktivasyonunun arkasındaki temel etkendir (277). Bu ailenin üyeleri, hem apoptozu başlatan (pro-apoptotik) hem de engelleyen (anti-apoptotik) etkilere sahiptir. Sitokrom c'nin serbest bırakılmasıyla apoptoz başlar veya bu serbest bırakılma engellenerek apoptoz inhibe edilir. Kaspazların aktive olabilmesi için mitokondrinin etkinleşmesi şarttır. Apaf-1, sitozolde latent bir protein olarak bulunur ve mitokondri tarafından salınan Sitokrom c ile birleşerek bir kompleks oluşturur. Bu kompleks, inaktif haldeki kaspaz 9'u aktif hale getirir (278, 279).

4.2.2. Apoptozda Kaspaz 12'nin Önemi

Kaspaz 12, endoplazmik retikulum (ER) zarının dış yüzeyinde bulunan ve stres faktörleri ile aktive olan yıkıcı bir enzimdir. Bu stres faktörleri arasında, INS-1E hücrelerinde ve insan adacıklarında görülen thapsigargin, tunikamisin ve proinflamatuar sitokinler gibi kimyasallar bulunur (11, 280). Aktivasyon sonrası kaspaz 12, sitoplazmaya salınır ve hücre ölümü zincirleme tepkisini başlatır. Bu zincirleme tepki, kaspaz 3 ve 7'nin aktivasyonu gibi aşamaları içerir (281). Kaspaz 12'nin tam olarak nasıl aktive olduğu henüz tam olarak anlaşılmamıştır. Ancak, bu aktivasyona katkıda bulunabileceği düşünülen çeşitli süreçler vardır. Bunlardan biri de kalpain adı verilen bir sitoplazmik enzim ile etkileşimidir. Kalpain, kalsiyum tarafından aktive olan bir nötr sistein endopeptidazdır. Bu nedenle, hücre içerisinde kalsiyum seviyesinin yükselmesi, kalpain aktivitesini arttırabilir ve bu da kaspaz 12 ile etkileşimini

sağlayarak aktivasyonuna yol açabilir (281, 282). İnsan adacıklarına IL-1β, IFNγ+TNFα gibi sitokinler maruz kaldığında, anti-apoptotik Bcl-2 proteininin aşırı eksprese edilmesi, kaspaz 12 parçalanmasını azaltır ve dolayısıyla sitokin kaynaklı kaspaz 3 apoptozu engeller. Bu bulgu, kaspaz 12'nin sitokinler tarafından tetiklenen beta hücre ölümü sürecinde potansiyel bir rol oynayabileceğini göstermektedir (11).

4.3. Apoptozis ve Nefrotik Sendrom

Apoptoz, proteolitik enzim kaspaz tarafından düzenlenen bir tür programlanmış hücre ölümüdür (283). Son çalışmalar, apoptozun çeşitli insan hastalıkları ile yakından ilişkili olduğunu göstermiştir. Örneğin, apoptoz kanser tedavisi için bir hedef olarak başarıyla kullanılmıştır ve bir dizi klinik ilaç geliştirilmiştir (284). Ek olarak, apoptoz nörodejeneratif hastalıklarda oksidatif stres ile belirgin bir şekilde ilişkilendirilmiştir (285). Apoptozun temel düzenleyici proteinleri olan kaspazlar, çeşitli hastalıklarda enfeksiyon ve inflamatuar yanıt ile yakından ilişkilidir (10). Akut böbrek hasarı apoptoz ile önemli derecede ilişkilidir. Yapılan bir çalışmada böbrek iskemi/reperfüzyon hasarı hayvan modeli, hipoksi/iskemi koşulları altında böbrek apoptozisini tetiklemek için sitokrom C'nin mitokondrilerden salındığını ortaya koymuştur (286). Çeşitli böbrek rahatsızlıkları, genellikle monositler/makrofajlar ve T hücreleri gibi mononükleer hücre infiltrasyonu ile tanımlanır. İnflamatuar hücreler, parankimal hücrelerin apoptozisine yol açan etmenleri üretir. Oksijen radikalleri, Monositler/makrofajlar, FasL, nitrik oksit tümör nekroz faktörü (TNF) gibi bileşenleri salgılarlar (287). İnflamatuar hücrelerin apoptoz yoluyla yok edilmesi, böbrek iltihabının çözülmesine yardımcı olur. Bu temizleme işleminin başarısız olması, iltihaplanma sürecinin devam etmesine yol açabilir. Apoptotik lökositlerin, membran bütünlüklerini kaybetmeden önce uzaklaştırılamaması, lokal doku hasarını artırabilir ve hücre dışı matris proteinlerinin parçalanması yoluyla kemotaktik parçaları serbest bırakabilir. Bu durum, lökosit akışını sürdürme potansiyeli olduğu kanıtlanmıştır ve zararlı içeriklerin kontrolsüz salınımına neden olabilir (288). Nefrotik proteinüri çeşitli mekanizmalarla böbrek hasarına yol açabilir.Proteinüri, otofajiyi düzensizleştirebilir ve apoptozu artırabilir, böylece minimal değişiklik nefropatisi ve fokal ve

segmental glomerülosklerozda ayak süreci silinmesine ve podosit kaybına katkıda bulunabilir (289, 290). Proteinüri, interstisyel fibrozis ve tubüler atrofinin gelişmesinde de rol oynayabilir. Filtrelenen proteinler, proksimal tübül hücreleriyle etkileşerek sinyal yolaklarını aktifleştirir. Bu da hücre büyümesinde değişikliklere, apoptoza, gen transkripsiyonuna, kompleman aktivasyonuna ve proinflamatuar ve profibrotik mediatörlerin salınımına yol açar (291). Proinflamatuar mediatörler ve büyüme faktörleri, böbreklerde fibrozu ilerleten fibroblastları çekerek ve aktive ederek, ekstraselüler matrisin sentezini artırırlar. Diğer yandan, tübül hücrelerindeki otofaji ve apoptozis mekanizmalarının bozulması, tübüler atrofiye yol açar (292, 293).

5. Resveratrol

Stilbenler, fenolik bileşiklerin bir alt grubudur ve bulundukları bitkilerde fitoaleksin işlevi görürler. Fitoaleksinler, stresle ilişkili faktörlere yanıt olarak üretilen düşük moleküler ağırlıklı sekonder metabolitlerdir (294, 295). Resveratrol (trans-3,5,4’-trihidroksi-stilben), ilk olarak 1940 yılında Takaoka tarafından Veratrum grandiflorum bitkisinin köklerinden elde edilmiştir (297). Daha sonraki çalışmalarda, bu bileşiğin izolasyonu için Polygonum cuspidatum bitkisinin kökleri kullanılmıştır. “Kojo-kon” adı verilen bir ilaç, geleneksel Japon ve Çin tıbbında yaygın olarak kullanılır. Bu ilaç, Polygonum cuspidatum bitkisinin köklerini içerir ve damar tıkanıklığı, yüksek tansiyon, alerjik reaksiyonlar ve cilt iltihabı gibi çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde etkilidir (296). Resveratrol isminin, bu bileşiğin izolasyonunda kullanılan bitki kaynağı ve kimyasal yapısında bulunan hidroksil (-OH) gruplarından (-ol) türetildiği varsayılmaktadır (297). Resveratrol, polifenolik bir antioksidan olup doğada üzüm, asma, dut, yer fıstığı, kızılcık ve yaban mersini gibi çeşitli kaynaklarda bulunur (298). Resveratrol antienflamatuvar, antidiyabetik, antioksidan, göz hastalıklarına karşı savunma, kalbi koruyucu, yaşam süresini uzatma ve fitoöstrojen gibi özellikleri nedeniyle tıbbi açıdan değerli ve geniş çapta araştırılan bir fitokimyasaldır (299–304). Bir dizi çalışma RSV'nin doku dağılımını incelemiştir. Ratlardaki 3H-trans-resveratrol oral uygulaması,

plazma ve farklı dokularda tespit edilebilir RSV seviyeleri ile sonuçlanmış ve en yüksek konsantrasyon karaciğer ve böbrekte bulunmuştur (305). Benzer şekilde, ratlarda trans-RSV'nin tek doz intravenöz uygulaması, önemli serum seviyelerine çıkıldığı görülmüş ve doku dağılımı incelendiğinde böbrekte ve akciğerde en yüksek seviyeleri bulmuştur (306). Uchida ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, RSV'nin glomerüler mesangial hücreler üzerindeki potansiyel pro-inflamatuar etkileri gösterilmiştir (307). NF-κB, aktive olduğunda, inflamasyon ve bağışıklık düzenlemesi ile ilgili genlerin transkripsiyon sürecini başlatan bir protein ailesidir. Bu hücreler, glomerülonefrit hastalığı yaşayan bireylerde aktive edilir. Glomerüler mesangial hücreler, pro-inflamatuar sitokin IL-1 veya TNF-α ve RSV tedavisiyle birlikte uyarıldığında, NF-κB aktivitesinde artış gözlemlenmiştir. Bu artan pro-inflamatuar etki, böbrek proksimal tübül LLCPK1 hücrelerinde de gösterilmiştir. Ancak, Glomerüler mesangial hücreler ve LLCPK1 hücreleri yalnızca RSV ile tedavi edildiğinde, NF-κB aktivitesinde önemli bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Bu durum, RSV'nin yalnızca önceden var olan pro-inflamatuar sitokinler bulunduğunda pro-inflamatuar etkiler gösterdiğini göstermektedir (Şekil-16) (307). Venkatesan ve arkadaşlarının (308) çalışmasında, RSV tedavisinin, PDGF (platelet-derived growth factor) tarafından uyarılan mesangial hücre proliferasyonunu önemli derecede engellediği gösterilmiştir. PDGF, mesangial hücrelerin çoğalmasını güçlü bir şekilde tetikleyen bir büyüme faktörüdür ve glomerülonefrit hastalığının patogenezinde rol oynar RSV, PDGF reseptörünün tyrosine-751 ve tyrosine-716 fosforilasyonunu engelleyerek bu yoldaki sinyalleşmeyi bloklamaktadır. Ayrıca, RSV, PI3K, Akt, ERK1/2 ve c-Src gibi sinyal moleküllerinin aktivitesini engelleyerek PDGF sinyalini inhibe etmiştir. Önemli olarak, RSV PTP1B adlı fosfatazın aktivitesini artırarak PDGF reseptörlerinin fosforilasyonunu azaltmıştır (308). RSV, yüksek glikoz maruziyetinin neden olduğu oksidatif stresi ve mitokondriyal süperoksit üretimini azaltmıştır. Ayrıca, mangan süperoksit dismutaz aktivitesini artırmış ve yüksek glikozun neden olduğu mitokondriyal kompleks III aktivitesindeki düşüşü önlemiştir. RSV tedavisi, mitokondriyal membran potansiyelini korumuş, ATP üretimini artırmış ve

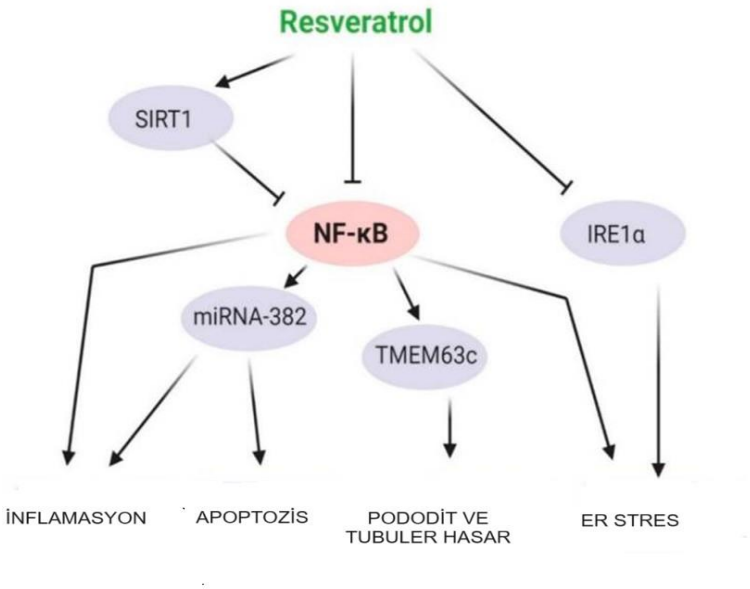
mitokondriyal DNA içeriğini korumuştur. Bu etkilerin tümü, sirtuin 1 inhibisyonu ile engellenmiştir, bu da sirtuin 1'in RSV'nin etkilerinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (309). RSV tedavisi, CRL-2573 rat böbrek hücre hattı ve primer mesangial hücrelerde yüksek glikozun yol açtığı hücre proliferasyonunu ve fibronectin ifadesini engellemiştir. Ayrıca, RSV, yüksek glikozun neden olduğu JNK (c-Jun N-terminal kinase) ve NF-κB aktivasyonunu azaltmış ve NADPH oksidaz aktivitesini ile ROS üretimini düşürmüştür. Genel olarak, RSV tedavisi yüksek glikozun neden olduğu oksidatif stresi ortadan kaldırmıştır (310). Xu ve arkadaşlarının çalışmasında (311), RSV tedavisinin yüksek glikozun neden olduğu mesangial hücre proliferasyonunu, Akt ve NF-κB p65 protein seviyelerini, ayrıca inflamasyon markeri PAI-1 (plasminojen aktivatör inhibitörü-1) protein seviyelerini azalttığı bulunmuştur. Akt inhibitörleri de PAI-1 ifadesinde aynı etkiyi gösterdiği için, RSV'nin etkilerinin Akt yolu aracılığıyla gerçekleşebileceği öne sürülmüştür (311). RSV'nin mesangial hücrelerde temel, PDGF, yüksek glikoz ve TGF-β1 tarafından uyarılan hücre proliferasyonunu azalttığını ve bu stres durumlarının yol açtığı oksidatif stres ve inflamasyonu önlediğini göstermektedir. RSV tedavisi, mitokondriyal süperoksit ve ROS üretimini azaltmış, MnSOD ve mitokondriyal kompleks III aktivitesini artırmış ve fibronectin üretimini engellemiştir. Ayrıca, RSV, NF-κB, JNK, Akt, ve p38 sinyal yollarını düzenleyerek yüksek glikozun neden olduğu etkileri önemli derecede azaltmıştır (Şekil-17) (308–311). Böbrek epitel hücrelerinde hasar, böbrek fonksiyon bozukluğu ve nekroza neden olarak böbrek yetmezliğine yol açabilir (312). Çeşitli çalışmalar, RSV tedavisinin böbrek hastalıklarına karşı koruyucu etkilerini incelemiştir. Lee ve arkadaşlarının glomerüler epitel hücreleri üzerinde yaptığı çalışmada RSV tedavisi, yeni protein sentezini azaltmış ve yüksek glikoz koşullarında LKB1'in asetilasyonunu önleyerek AMPK aktivitesini artırmıştır. RSV, yüksek glikoz kaynaklı fibronektin üretimini engellemiş ve bazı translasyon faktörlerinin fosforilasyonunu azaltmıştır (313). Hong ve arkadaşlarının yaptığı araştırmada (314) insan böbrek epitel hücrelerinde RSV tedavisi, oksalat kaynaklı böbrek taşı oluşumunu azaltmış ve bu süreçte rol oynayan genlerin mRNA seviyelerini baskıladığı ayrıca, RSV antioksidan enzim aktivitelerini artırmış ve yüksek

glikoz kaynaklı TGF-β1, TGF-β tip I ve II reseptörlerinin protein seviyelerini düşürmüştür (314). Wu ve arkadaşlarının (315) yaptığı çalışmada polikistik böbrek hastalığının in vitro modelinde RSV tedavisi, inflamasyon belirteçlerinin ve kist sayısının azalmasına yol açmıştır. RSV, pro-inflamatuar proteinlerin seviyelerini düşürmüş ve antioksidan aktiviteyi artırmıştır (315). LPS ve tunikamisin ile tedavi edilen HK-2 hücrelerinde RSV, inflamasyon ve sepsis tepkimelerini ortadan kaldırmış ve IRE1-p65 yolunu inhibe etmiştir (316). Böbrek podositleri, glomerulusun Bowman kapsülündeki kapillerlerin etrafını saran hücrelerdir. Fonksiyonel olarak, podositler ve böbrek endotelyal hücreleri birlikte filtrasyon bariyerini oluşturur ve mesangial hücrelerle etkileşimde bulunarak glomerüllerin işlevini düzenlerler (317). Yang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, TGF-β1 ile indüklenen transdiferansiyasyon sonrası RSV tedavisi uygulanan fare podositlerinde, albumin geçirgenliğinin belirgin şekilde azaldığı ve E-kaderin ifade eden hücre yüzdesinin arttığı görülmüştür. Bu bulgular, RSV tedavisinin podosit ölümü ve fonksiyon bozulmasını azalttığını göstermiştir (Şekil-17) (318). Yüksek glikoz koşullarında, RSV tedavisi mitokondriyal stresi hafifletmiş, mROS üretimini azaltmış ve mitokondriyel membran potansiyelini artırmıştır. Ayrıca, RSV tedavisi solunum zinciri kompleks I ve III aktivitelerini artırmış, pro-apoptotik proteinlerin mitokondriyal salınımını azaltmıştır. Bu bulgular, RSV'nin mitokondriyal fonksiyonu iyileştirdiğini ve podosit hasarını azalttığını göstermiştir (319). Etilen glikol ile böbrek taşı oluşturulan sıçanlara resveretrol uygulanmıştır. RSV tedavisi, idrarda kristal oluşumunu ve serum malondialdehit seviyelerini azaltmıştır. Ayrıca, RSV tedavisi böbrek antioksidan enzimleri (glutatyon peroksidaz, katalaz ve SOD) seviyelerini artırmış ve hyaluronan ile osteopontin protein seviyelerini düşürmüştür, bu da böbrek hücre hasarını azaltmış olduğunu göstermiştir (314). Arsenik Trioksit ile indüklenen böbrek fibrozisi modeli sıçanlarına uygulanan RSV tedavisi ile oksidatif stresi azalmış, MDA ve ROS üretimi düşmüş, böbrek dokusunda nekrotik tübüler hücrelerin oranı, serum BUN ile kreatinin seviyelerini azalttığı gösterilmiştir (320). İskemik-reperfüzyon modelindeki farelere uygulanan RSV'den sonra serum kreatinin ve BUN seviyelerini azaldığı saptanmıştır

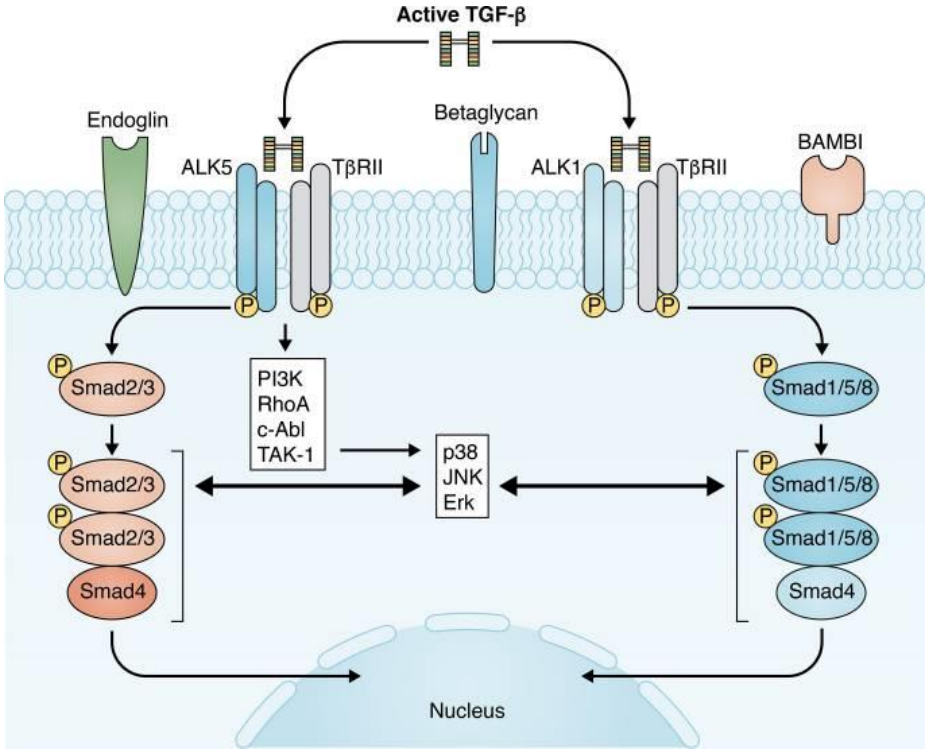
(321). Fu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kadmiyum ile böbrek hasarı oluşturulan fatrrelere uygulnan RSV tedavisinden sonra BUN ve serum kreatinin seviyelerini düşmüş, kaspaz-3 aktivitesini ve Bax protein seviyelerini azalttığı görülmüştür (322). Şu ana kadar böbrek hastalıklarıyla ilgili sadece iki klinik çalışma, RSV'nin insanlar üzerindeki etkilerini incelemiştir. Saldanha ve arkadaşlarının (323) yaptığı çalışmada, 500 mg/gün RSV'nin 4 hafta boyunca diyaliz olmayan kronik böbrek hastalığı hastalarına verilmesi incelenmiştir. RSV tedavisi, antioksidan ve anti-inflamatuar belirteçlerin seviyelerinde anlamlı bir değişiklik yaratmadığı gösterilmiştir. (323). Lin ve arkadaşlarının (324) yaptığı çalışmada, düşük doz (150 mg/gün) veya yüksek doz (450 mg/gün) RSV'nin 12 hafta boyunca periton diyaliz hastalarına verilmesi değerlendirilmiştir. Yüksek doz RSV tedavisi, ortalama ultrafiltrasyon hacmi ve hızında anlamlı iyileşmeler sağladığı gösterilmiştir. Ayrıca, periton diyaliz sıvısındaki angiogenez belirteçleri VEGF, fetal karaciğer kinaz-1 ve angiopoietin-2 seviyelerinde önemli azalmalar gözlenmiştir. Angiopoietin reseptörü ve trombospondin-1 seviyeleri ise artmıştır. Bu veriler, RSV'nin periton diyaliz hastalarında angiogenez sürecini iyileştirdiğini ve ultrafiltrasyon fonksiyonunu geliştirdiğini göstermiştir (324). Wang ve arkadaşlarının (316) yaptığı çalışmada RSV tedavisi, sepsis indüksiyonu sonrası böbrek fonksiyonunu belirgin şekilde iyileştirmiştir. RSV, endoplazmik retikulum stresine bağlı NF-κB yolunu inhibe etmiştir. Bu özellikle GRP78, CHOP ve p-NF-κB protein seviyelerinin azalmasıyla gözlemlenmiştir. RSV tedavisi, pro-inflamatuar sitokinlerin (TNF-α, IL-1β, IL-6) serum seviyelerini önemli ölçüde azaltmıştır. Serum kreatinin ve BUN seviyeleri önemli ölçüde düşmüştür. Böbrek dokusunda görülen hasarı, nekroz oranını ve inflamatuar hücre infiltrasyonu azaltmıştır. Bu çalışma, resveratrolün, endoplazmik retikulum stresine bağlı NF-κB yolunu inhibe ederek çoklu mikrobiyal sepsis kaynaklı akut böbrek hasarını önleyebileceğini göstermiştir (316). Yuan ve arkadaşlarının (325) yaptığı çalışmada diyabetik nefropati modeli oluşturulan RSV ile tedavi edilen sıçanlarda serum kreatinin ve BUN değerinin düştüğü, böbrek dokusunda görülen glomerüler skleroz ve tübüler hasar, ER stresine bağlı GRP78, CHOP ve Kaspaz 12 seviyelerinin azaldığı saptanmıştır. RSV

tedavisi ayrıca pro-inflamatuar sitokinlerin (TNF-α, IL-1β, IL-6) ve oksidatif stres belirteçlerinin seviyelerini önemli ölçüde azaltmış ve antioksidan enzimlerin (SOD, CAT) aktivitelerini de arttırmıştır (325). RSV'nin diyabetik nefropatiye sahip sıçanlardaki böbrekler üzerindeki koruyucu etkilerini ve bu etkilerin endoplazmik retikulum stresi üzerindeki etkilerini inceleyen bir çalışmada RSV tedavisi apoptoz oranlarını belirgin şekilde azalmıştır. Yüksek glukoz seviyelerine maruz kalan hücrelerde endoplazmik retikulum stresine bağlı GRP78 veCHOP proteinlerinin ekspresyonu artmıştır. RSV tedavisi, bu proteinlerin seviyelerini önemli ölçüde düşürmüştür. Pro-apoptotik proteinlerden kaspaz 12 ve bax ekspresyonunun azaldığı, anti-apoptotik proteinlerden Bcl-2 seviyesinin arttığı saptanmıştır (326). Nihei ve ark. yaptığı çalışmada nefritik sıçanlarda resveratrolün proteinüri, hipoalbüminemi ve hiperlipidemi üzerine inhibitör etkisi ile birlikte nefrotik sendromun karakteristik semptomları olan proteinüri ve hipoalbüminemi önemli ölçüde düzeldiği görülmüştür (327). RSV'nin antiinflamatuvar etkileri birçok yolak üzerinden gerçekleşebilir. Araşidonik asit mekanizmasının inhibe edilmesi, bu yolakların ilki olarak bilinir. Araşidonik asit, membran fosfolipidlerinin fosfolipaz A2 ile parçalanması sonucunda salınır ve daha sonra siklooksijenaz (COX) ile metabolize edilerek inflamatuvar etkileri olan prostoglandinler (PG) (PGD2, PGE2, PGI2) ve tromboksan A2 oluşturur. Resveratrol'ün COX izoformları arasında ayrım yapabildiği ve araşidonik asidin yer aldığı proinflamatuvar yolaktan sorumlu olan COX-1 ve hidroperoksidaz işlevlerini inhibe ettiği belirlenmiştir (328–330). Başka bir mekanizma ise lenfoid, miyeloid ve epitel hücrelerdeki inflamatuar tepkileri kontrol eden ve farklı gen ifadelerini düzenleyen NF-κB aktivitesinin baskılanmasıdır (331). Nükleer faktör-kappa B'nin aktivasyonunun engellenmesi, inflamatuvar sitokinler olan TNF-α, IL-10, IL-6, IL-1'in ekspresyon seviyelerini düşürür. Bu durum, resveratrol'ün anti-inflamatuvar etkisini ortaya çıkarır (332). Bir in vitro çalışma, resveratrolün nükleer faktör-κB (NF-κB) fosforilasyonunu ve inflamasyon faktörlerinin üretimini azaltırken, lipopolisakkaride yanıtına karşı hücre canlılığını artırdığını ve IRE1 aktivasyonunu inhibe ederek böbrek hücrelerindeki hasarı azalttığını göstermiştir (234). Başka bir çalışma ise tavşanlar üzerinde yapılmış ve

resveratrolün böbreklerde hipoksi, mitokondriyal işlev bozukluğunu ve böbrek tübül hücrelerinin apoptozisini azalttığını göstermiştir (333). Li ve arkaaşlarının sıçan modelinde RSV tedavisinin, iskeminin neden olduğu böbrek fonksiyon bozukluğunu hafiflettiği gösterilmiştir (334). KBY gelişimi ile mitokondriyal disfonksiyon arasında bir bağlantı olduğu bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada, sıçanlarda resveratrolün mitokondriyal fonksiyonu iyileştirerek KBY tedavisinde önemli bir rol oynadığını ortaya koyulmuştur. Bu mekanizma, mitokondriyal membran potansiyel kaybının korunması, ATP seviyesinin yükseltilmesi, ROS oluşumunun azaltılması ve oksidatif fosforilasyonun kolaylaştırılmasını içermektedir (335). Yüksek glikozun neden olduğu oksidatif stresi (MDA ve ROS seviyeleri gibi) HK-2 hücrelerinde resveratrol ile azaltılmıştır. Resveratrol bunu, süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz enzimlerinin aktivitelerini artırarak başarmıştır (336). Yapılan başka bir çalışmada RSV, fare proksimal tübül hücrelerinde cisplatin kaynaklı hücresel hasarı ve apoptozu azaltmıştır (337).



Şekil-16: Resveratrol, NF-κB'yi inhibe eder; böylece böbrek iltihabını, tübüler apoptozu ve hasarı, podosit apoptozunu ve hasarını ve ER stresini azaltabilir. Ayrıca IRE1α yolunun inhibisyonu yoluyla ER stresini de baskılar (338).



Şekil-17: Doku fibrozisinde TGF-β sinyal yolları (339).

6. Metformin

ER stresi ve böbrek hastalığının seyri karşılıklı olarak neden-sonuç ilişkisindedir. Albumin yüklenmesi , toksinler ve iskemi ER'de yanlış katlanmış ve katlanmamış proteinlerin birikmesine neden olarak hücresel protein dengesini korumak için ER stres yanıtlarının aktifleşmesine yol açabilir. UPR'nin aktifleşmesi, ER'nin strese karşı koruyucu bir yanıtıdır. UPR, yeni proteinlerin sentezini engeller, protein katlama yeteneğini artırır ve yanlış katlanmış proteinlerin yıkımını teşvik ederek ER fonksiyon dengesini korur. Özellikle, kronik veya aşırı ER stresi, hayatta kalma modundan apoptotik moda geçişe neden olarak programlanmış hücre ölümünü tetikler. Bu, proapoptotik ER stres belirteci CHOP, JNK ve NFκB yollarının aktifleşmesi yoluyla gerçekleşir.Bu aktifleşmeyle inflamasyon, apoptoz ve fibrozis gelişir (340).

Metformin, molekül ağırlığı 129,167 g/mol olan ve biguanid türevi bir oral antidiyabetik ilaçtır. Özellikle Tip II Diyabet hastaları tarafından geniş çapta kullanılır. Bu oral hipoglisemik ilacın faydaları 1950'lerde keşfedilmiştir ve 1950'lerin sonlarına doğru piyasaya sürülmüştür. Metformin, karaciğerdeki

glukoneogenez işlemini engelleyerek ve kas hücrelerindeki insülin hassasiyetini artırarak kan şekeri seviyelerini düşürür (341).

Metformin'in metabolik aktivitesi, hücre içi enerji seviyelerindeki değişiklikleri algılayan bir sensör görevi gören Adenosin Mono-Fosfat (AMP) aktive protein kinaz (AMPK) yolunu uyarmasıyla gerçekleşir (342). Hücrenin enerji ihtiyacının artmasıyla AMP/ATP oranının yükseldiği durumlarda, AMPK adı verilen üç alt birimden oluşan bir kompleks (bir katalitik alfa alt birim ve iki düzenleyici beta ve gamma alt birim) doğrudan bir AMP molekülünün bağlanmasıyla aktive olur. Aktive olan alfa alt birimi, kinase aktivitesini tetikleyerek metabolizmayı enerji tasarrufu yönünde düzenler (343). Metformin, AMPK aktivasyonunun otofajik aktiviteyi doğrudan artırdığı bilinen unc-51 benzeri kinaz ve Beclin 1'in fosforilasyonu aracılığıyla otofajiyi artırabilir (344). Otofaji, hücre içindeki organellerin ve makro moleküllerin kesecik içerisine alınıp lizozomlara aktarılması ve lizozomla birleştikten sonra parçalanmasıyla sonuçlanan bir mekanizmadır (345). Birçok çalışma, otofajinin in vivo ve in vitro iskemi/reperfüzyon hasarıyla indüklendiğini, farmakolojik ve gen inhibitör çalışmalarına göre akut böbrek yetmezliğinde böbrek koruyucu bir rol oynadığı bildirilmiştir (346–348). Yapılan çalışmalarda normal böbrek homeostazisi için bazal otofajinin önemli olduğu, otofajiye bağlı gen ekspresyonu eksik olan fare böbreklerinde böbrek fonksiyon bozukluğu ve hasarının daha fazla olduğu görülmüştür. Ek olarak sürekli otofaji aktivasyonu böbrek hasarını şiddetlendirir ve böbrek hücresi ölüm yollarını aktive eder (349, 350). Bunun yanı sıra, metformin'in yaşlanma karşıtı, kanser karşıtı ve iltihap karşıtı etkileri de bulunmaktadır. Araştırmalar, metformin'in antiiflamatuvar etkisinin, AMPK'nın NF-kB üzerindeki inhibisyonu ile gerçekleştiğini göstermektedir (351). Bu inhibisyon mekanizması, makrofajlardan nitrik oksit, prostaglandin E2 ve IL-1β, IL-6, TNF-α gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimini azaltır (341). Yapılan bir çalışmada , AMPK aktivasyonu, ER stres belirteçlerinin (GRP78, CHOP) ekspresyonunu azaltarak ER stresini hafiflettiği ve fibrozis belirteçlerinin (α-SMA, kollajen I) ekspresyonunu azaltarak böbrek dokusunda fibrotik lezyonları azalttığı saptanmıştır (352). Jin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada testosteron

granüloza hücrelerinde ER stres belirteçlerinin (GRP78, CHOP) ekspresyonunu artırarak ER stresini indüklediği saptanmıştır. Metformin tedavisi, testosteronun aktive etiği p38 MAPK yolunu ve ER stresini azaltarak GRP78 ve CHOP ekspresyonunu önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir (353). Mayer ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada metforminin AMPK preaktivasyonu yoluyla iskemi nedeniyle oluşan renal epitel hücre hasarına karşı koruyucu etkiler sağlayabileceği gösterilmiştir (354). Ayrıca, Wang ve arkadaşları, metforminin AMPK aktivasyonunu artırarak ve TGF-β1'i aşağı regüle ederek, iskemi-reperfüzyon hasarını azaltabileceğini ve tübülointerstisyel fibrozu önemli ölçüde iyileştirebileceğini göstermiştir (355).

Metformin, AMPK ve mTOR yollarını düzenleyerek hücrelerdeki oksidatif stresi ve apoptozu (hücre ölümünü) azaltır. MPK-SIRT1-PGC-1α yolu üzerinden nefrin adlı protein miktarını artırır. Nefrin, böbrek hücrelerinde önemli bir rol oynar ve AMPKα1 aktivitesini artırarak TRPC6 protein seviyelerini yükseltir. Bu, podosit kaybını azaltarak böbrek fonksiyonlarını korur. GLP-1R reseptörünün mezanjiyal hücrelerde ifade edilmesini artırarak apoptozu kısmen inhibe eder ve hücre hasarını azaltır. MBNL1/miR-130a-3p/STAT3 yolu üzerinden hücre yaşlanmasını (senesans) azaltır. Parkin protein miktarını artırarak apoptozu önler ve PP2A'yı aktive ederek NF-κB'yi baskılar. Bu mekanizmalar mitofaji (mitokondri temizliği) sürecini artırarak tübülointerstisyel hasarı azaltır (24). Borges ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, metformin tedavisinin albuminüri seviyelerini ve böbrekteki fibrozis belirteçlerini önemli ölçüde azalttığını bulmuşlardır. Bu etki, metforminin böbreklerdeki AMPK aktivasyonuyla mitokondriyal biyogenez artırarak sağlanmıştır (356). Lee ve arkadaşları, metforminin AMPK aracılığıyla Acetyl-CoA Carboxylase (ACC) fosforilasyonunu artırarak böbreklerdeki fibrozis ve lipid birikimini azalttığını göstermiştir. Bu mekanizma, metforminin folik asit ile indüklenen böbrek hastalığı modelinde anti-fibrotik etkisinin temelidir (357). Liang ve arkadaşlarının in vitro çalışmasında metforminin MEK/ERK1/2 sinyal yolunu baskılayarak MCP-1 üretimini inhibe ettiği ve bu yolla böbrek tübüllerindeki hasarı azalttığı gösterilmiştir (358). Shen ve arkadaşları da benzer şekilde metforminin ERK1/2 aktivitesini inhibe ederek ve ECM birikimini

engelleyerek böbrek fibrozisini önlediğini bulmuştur (359). Yapılan bir çalışmada metformin, kemoterapi kaynaklı oral mukoziti endoplazmik retikulum stresini ve inflamatuar yanıtı azaltarak korumuştur. Bu tedavi, oral mukozitte NF-κB aktivitesini inhibe edip inflamatuar faktörlerin salınımını baskılayarak TNF-α ve IL-1β seviyelerini düşürmüştür. Ayrıca, metformin tedavisi endoplazmik retikulum stres belirteçleri olan GRP78 ve CHOP protein ekspresyonunu da azaltmıştır (360). Endoplasmik retikulumda meydana gelen N-glikozilasyon kusuru gibi düzensizlikler UPR'yi tetikler (361). UPR, endoplasmik retikulumdaki stresi algılayan üç ana sensör tarafından aktive edilir. Bu sensörler, ER membran proteinleri olarak ifade edilen PKR benzeri ER kinaz (PERK), Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 6 (ATF-6) ve İnositol Gerektiren Enzim-1α (IRE1α) (18). ATF-6'nın aktivasyonu, proteinin Golgi aparatına taşınmasıyla başlar. Golgi'de, ATF-6'nın sitoplazmik kısmı proteolitik sindirim yoluyla serbest bırakılır ve ardından çekirdeğe taşınır. PERK, ATF-6 ve IRE1α, hücrenin protein katlama kapasitesini artırmak için ER şaperonlarının (örneğin GRP78 ve GRP94 gibi) gen ekspresyonunu uyarırlar. Ancak aşırı stres durumunda, hücre ölümü sinyalini veren CHOP adlı bir proteinin üretimini de tetikleyebilirler (18). Uzun süreli ER stresinde, CHOP proteininin tetiklediği, Kaspaz 3 ve 12'nin aktivasyonunu içeren ve Apoptotik sinyal-kinaz-1 tarafından düzenlenen bir sinyal iletim kaskadı, apoptozis yanıtını başlatabilir (362). Bir çalışmada, sıçanlarda renal iskemi-reperfüzyon hasarından sonra metformin uygulamasının, böbrek fibrozunun patogenezinde rol oynayan TNF-a ve IL-6 ekspresyonunu azaltarak böbrek fibrozunu hafifletebileceği gösterildi (363).

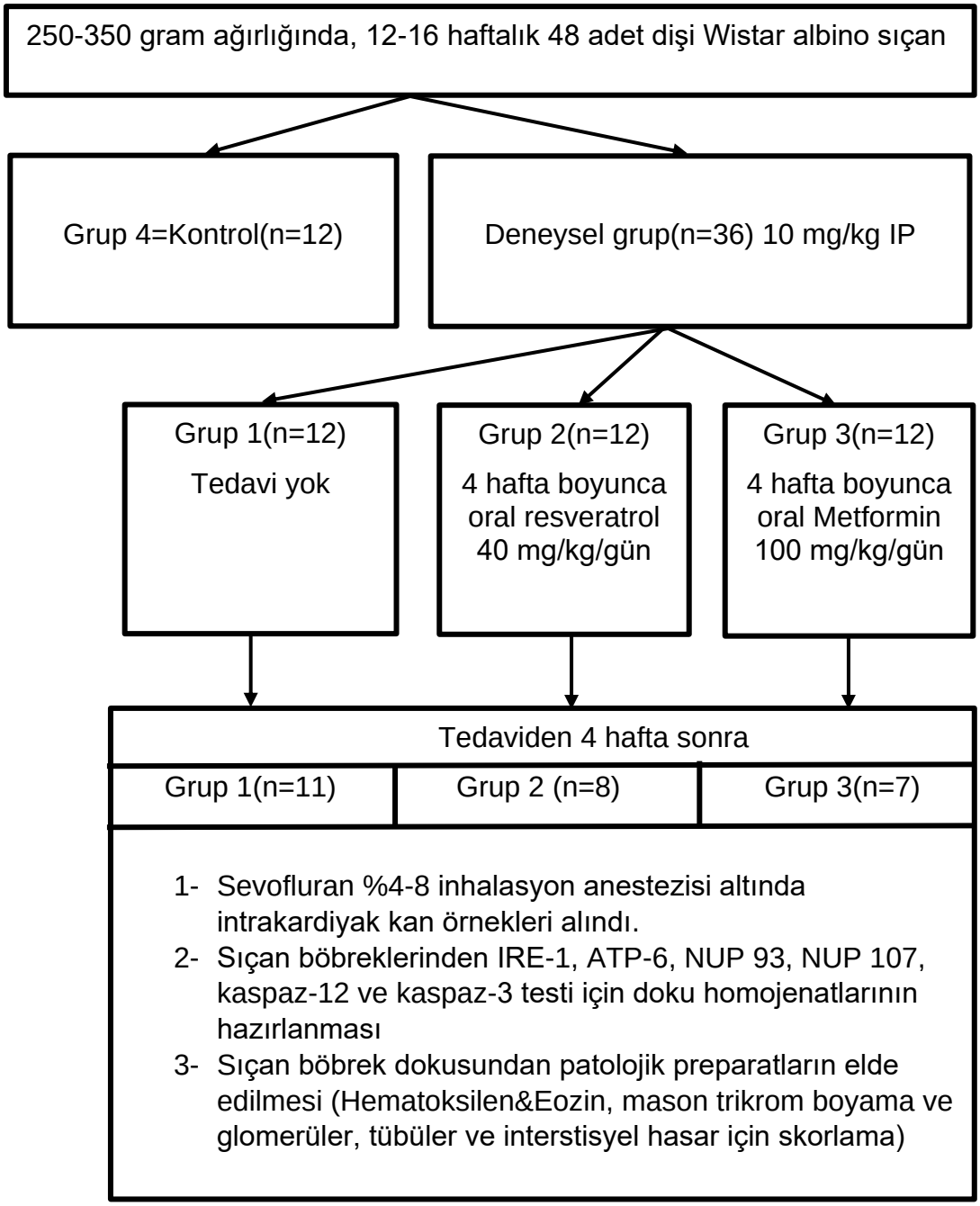
GEREÇ VE YÖNTEM

Sıçanlarda deneysel olarak adriamisin ile nefrotik sendrom oluşturuldu. Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan (21.03.2023 tarih ve 2023-05/04 karar numaralı) proje onayı alındı. Tüm hayvan deneyleri, Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Komitesi tarafından onaylanan ve Laboratuvar Hayvanlarının Bakımı ve Kullanımına İlişkin NIH Kılavuzuna uygun olarak gerçekleştirildi. Bu model, sıçanlarda NS oluşturmak için literatürde tanımlanmış ve yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir (364, 365). Adriamisin enjeksiyonu, iki gruba (2. ve 3. gruplar) uygulandı ve bu gruplara sırayla 4 hafta süreyle resveratrol ve metformin tedavileri verildi. Bu uygulamalar sonucunda deneyin süresi toplamda altı hafta oldu. Çalışma esnasında kullanılan resveratrol, Donotage firması tarafından sağlandı ve metformin ise İlko ilaç firmasından alındı. Her iki madde de bilimsel araştırma amaçlı kullanılmak üzere üretilmiş saf etken maddelerdir. Çalışma grupları, 250-350 gram ağırlığında ve 12-16 hafta yaşında olan dişi Wistar albino sıçanlardan seçildi. Bu sıçanlardan rastgele belirlenen 12 tanesi kontrol grubu (4. Grup) olarak takip edildi, diğer 36'sına ise adriamisin hidroklorür distile su ile karıştırılarak intraperitoneal yolla 10 mg/kg tek doz verilerek nefrotik sendrom oluşturuldu (100). Adriamisin uygulamasından sonraki 15. günde, 36 sıçan rastgele üç farklı gruba dağıtıldı. 1. grup (Adriamisin grubu) nefrotik sendrom oluşturulan sıçanlardan oluştu. Bu gruptaki sıçanlar standart sıçan yemi ve musluk suyu ile beslendi. Bu gruptaki sıçanlara herhangi bir ek işlem veya tedavi uygulanmadı. Deney sürecinde bir sıçan öldü. Bu grupta bulunan 11 sıçan, 2., 4. ve 6. haftalarda, daha önce literatürde belirtildiği gibi, 5 saat boyunca metabolik kafeslere yerleştirildi. İdrar protein ölçümleri için kullanılmak üzere, bu sıçanlardan spot idrar örnekleri toplandı. Adriamisin uygulamasının ardından 6 hafta geçtikten sonra, literatürde belirtildiği gibi, deney sona erdirildi (sevofloran %4-8 inhaler kullanılarak) (366) . İntrakardiyak yöntemle 5 mm kan örneği ve böbrek dokusu toplandı. Deneyin toplam süresi 6 hafta olarak ayarlandı. Sıçanlar, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olacak

şekilde bir döngüye tabi tutuldu ve sıcaklık kontrollü bir odada incelendi. Böbrek doku lizatı, idrar ve kan örnekleri, analiz edilene kadar -20 °C'de muhafaza edildi. 2. Grup (Adriamisin + Resveratrol grubu) adriamisin uygulandıktan 15 gün sonra standart sıçan yemi ile beslenen sıçanlara, suyuna resveratrol 40 mg/kg/gün (%0,3 carboxymetil celluloz ile seyreltilmiş) olarak eklendi (367) ve bu tedavi 4 hafta süreyle uygulandı. Bu grupta bulunan sıçanlardan 4 tanesi deney sürecinde öldü. Toplamda 8 sıçan, 2., 4. ve 6. haftalarda, literatürde belirtildiği gibi, 5 saat boyunca metabolik kafeslere yerleştirildi. İdrar protein ve kreatinin ölçümleri için kullanılmak üzere, bu sıçanlardan spot idrar örnekleri toplandı. Adriamisin uygulaması literatür bilgilerine göre gerçekleştirildi. Deney, 6 hafta sonra sonlandırıldı. Sevofloran (%4-8 inhaler) kullanılarak intrakardiyak 5 mm kan örneği ve böbrek dokusu alındı. Deneyin süresi toplamda 6 hafta olarak belirlendi. Sıçanlar, 12 saatlik aydınlık ve 12 saatlik karanlık döngüsüne tabi tutuldu ve sıcaklığı ayarlanmış bir odada gözlemlendi. Böbrek doku lizatı, idrar ve kan örnekleri, analiz edilene kadar -20 °C'de muhafaza edildi. Grup 3 (Adriamisin + metformin grubu) için: Adriamisin uygulamasından 15 gün sonra, standart sıçan yemi ile beslenen sıçanların suyuna 100 mg/kg/gün metformin eklendi ve bu tedavi 4 hafta boyunca devam etti (368). Bu gruptaki sıçanlardan 5'i deney sırasında öldü. Bu gruptaki toplam 7 sıçan 2,4 ve 6. haftalarda literatürde daha önce uygulandığı şekilde 5 saat süre ile metabolik kafeslere alınarak, idrar protein ve kreatinin ölçümlerinde kullanılmak üzere, spot İdrar örnekleri toplandı. Böbrek doku lizatı, idrar ve kan örnekleri analiz edilene kadar -20 °C'de muhafaza edildi. Tüm sıçanlardan intrakardiak yolla 5 ml kan örneği alındı, 4000 devirde 4 dakika süreyle santrifüj edildi ve serum örnekleri elde edildi. Bu örnekler, kullanılana kadar -80 °C'de saklandı. Grup 4 (Kontrol grubu) n= 10: Bu sıçanlar, 12 saatlik aydınlık ve 12 saatlik karanlık döngüsüne tabi tutuldu ve sıcaklığı ayarlanmış bir odada incelendi. Beslenmeleri, standart sıçan yemi ve musluk suyu ile gerçekleştirildi. Bu gruptaki sıçanlara, çalışma süresi boyunca herhangi bir işlem veya tedavi uygulanmadı. Bu sıçanlar, 2., 4. ve 6. haftalarda, daha önce literatürde uygulandığı gibi, 5 saat boyunca metabolik kafeslere yerleştirildi. İdrar protein ölçümleri için kullanılmak üzere, spot idrar

örnekleri toplandı. Deney başladıktan 6 hafta sonra sevofloran (%4-8 inhaler) anestezi kullanılarak sonlandırıldı. Bu gruptaki sıçanlardan intrakardiak yolla 5 ml kan ve böbrek dokusu örneği alındı. Böbrek dokuları, idrar ve kan örnekleri analiz edilene kadar -20 °C'de muhafaza edildi. Kan örneklerinde, otoanalizör kullanılarak kreatinin, BUN, albümin, total kolesterol ve trigliserid değerleri belirlendi. Spot idrar örneklerinde ise protein ve kreatinin ölçümleri yapıldı. Biyokimyasal analizler, Roche Modular cihazı kullanılarak biyokimya laboratuvarında gerçekleştirildi. Serum ve idrar kreatinin Jaffe, kreatinin, BUN, trigliserid ve total kolesterol için enzimatik kalorimetrik; total protein ve albümin için BCG end point kalorimetrik; idrar proteini için ise türbidimetrik yöntemler kullanıldı. Böbrek doku örnekleri, ultrasonik parçalayıcı kullanılarak doku lizatı haline getirildi. Bu lizattan üreticinin talimatlarına göre NUP 93, NUP 107, ATF 6, IRE-1, Caspase 12 ELISA kitleri kullanılarak ölçüldü (Farmasina, İstanbul, Türkiye). ELISA için böbrek dokusu hazırlığı: Böbrek dokuları, yüzey kanını ve iç kalıntıları temizlemek için önceden +4 C'de soğutulmuş ticari PBS (fosfat tamponlu salin) solüsyonu ile yıkandı. Buz üzerinde, tartılan böbrek dokuları ince parçalara ayrıldı ve tüplere konuldu. Bu tüplere, proteaz inhibitörü içeren PBS solüsyonu eklendi. PBS solüsyonu 9 cc/1 gr böbrek dokusu olarak; proteaz kokteyli de 10 µL/1 cc PBS solüsyonu olacak şekilde böbrek dokuları üzerine eklenerek hiçbir doku parçası kalmayana kadar yüksek hızda birkaç dakika homojenizasyonları sağlandı. Örnekler homojenizasyondan sonra 30 dakika buz üzerinde inkübe edildi. Ardından, hücrelerin tamamen erimesini sağlamak ve örneklerin viskozitesini azaltmak için örnekler buz üzerinde tutularak 2 dakika sonikasyon işlemi yapıldı (her döngü için 10 saniyelik sonikasyon/10 saniye dinlenme periyotlarında). Ardından örnekler 5000 rpm'de 10 dk +4°C'de santrifüj edilip süpernatantlar elde edildi. Pelet kısmı atıldı. Çalışmadaki ölçümler yapılıncaya kadar lizatlar -20°C'de saklandı (369). Nukleoporinler ve Endoplazmik retikulum stres proteinlerin ölçümü ticari olarak elde edilen standart direkt sandwich ELISA yöntemi ile yapıldı. Mikrotitre plaka kuyuları, 1-10 µg/ml konsantrasyonda olan kaplama tamponu içinde, uygun kaplama antikorunun 100 ul'si kullanılarak kaplandı. Plaka, yıkama tamponunda 3 kez yıkandıktan sonra inkübe edildi. Her bir kuyucuğa 150 µl

blokaj solüsyonu eklenerek 37°C'de 60 dakika boyunca inkübe edildi ve sonrasında yıkama tamponunda 4 kez yıkandı. Numuneler ve standartlar, yıkama tamponunda seyreltildikten sonra her kuyuya 100 µl eklenerek 37°C'de 90 dakika inkübe edildi ve ardından yıkandı. Her bir kuyucuğa, uygun şekilde seyreltilmiş 100 µl enzim konjuge tespit antikoru eklenerek 37°C'de 1 saat süreyle inkübe edildi ve sonrasında yıkandı. Her kuyucuğa, 100 µl uygun substrat solüsyonu eklenerek oda sıcaklığında 30 dakika veya istenen renk değişimi görülene kadar inkübe edildi. 450 nanometredeki absorbans değerleri belirlendi. Böbrek doku örneklerinin patolojik incelemeleri yapıldı ve gruplar arasındaki farklılıklar tespit edildi. Resveratrol ve metformin tedavilerinin patolojik değişikliklere etkisi belirlendi. Deney gruplarındaki sıçanların böbrek dokuları, formaldehit içinde laboratuvara gönderildi. Işık mikroskop incelemesi için bu dokulardan, her deney sıçanı için böbreğin bir kesit yüzeyi örneklendi, bu örnekler kortikal ve medüller bölgeyi içeriyordu. Örneklenen doku parçası, çeşitli aşamalardan geçirildikten sonra takip cihazında işlendi ve rutin laboratuarda 2 mikron kalınlığında kesitler alındı. Masson trikrom boyaması uygulanan bu kesitlerden, lam lamel arası preparatlar hazırlandı. Patolojik inceleme sırasında, fibrozis değerlendirildi. Böbrek doku örneklerinin fibrozis varlığı, değişim yok (sıfır puan) %0-10 (1 puan), %10-25 (2 puan), %25-50 (3 puan) ve >%50 üstü (4 puan) olarak skorlandı. Elde edilen skorlarla deney grupları karşılaştırıldı. Kantitatif başkaca bir değerlendirme yapılmadı. Deney gruplarından elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS programı (versiyon 23) kullanılarak yapıldı. Normal dağılım göstermeyen grupların karşılaştırılmasında non-parametrik Kruskal-Wallis testi, normal dağılım gösteren çoklu grupların analizinde ise ANOVA testi tercih edildi. Korelasyon analizlerinde nonparametrik Spearman testi kullanıldı. Belirli bir veriyi etkileyen değişkeni belirlemek için, ANOVA testinin anlamlı olduğu durumlarda, lineer regresyon (Forward Stepwise modeli) analizi gerçekleştirildi. Bir grubun zaman içindeki değişimini belirlemek amacıyla Wilcoxon testi uygulandı. $P<0,05$ değerleri, istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Şekil-18, adriamisin ile indüklenen nefrotik sendromun deneysel tasarımını detaylı olarak göstermektedir.



Şekil-18: Adriamisin ile indüklenen nefrotik sendromun deneysel tasarımı.

BULGULAR

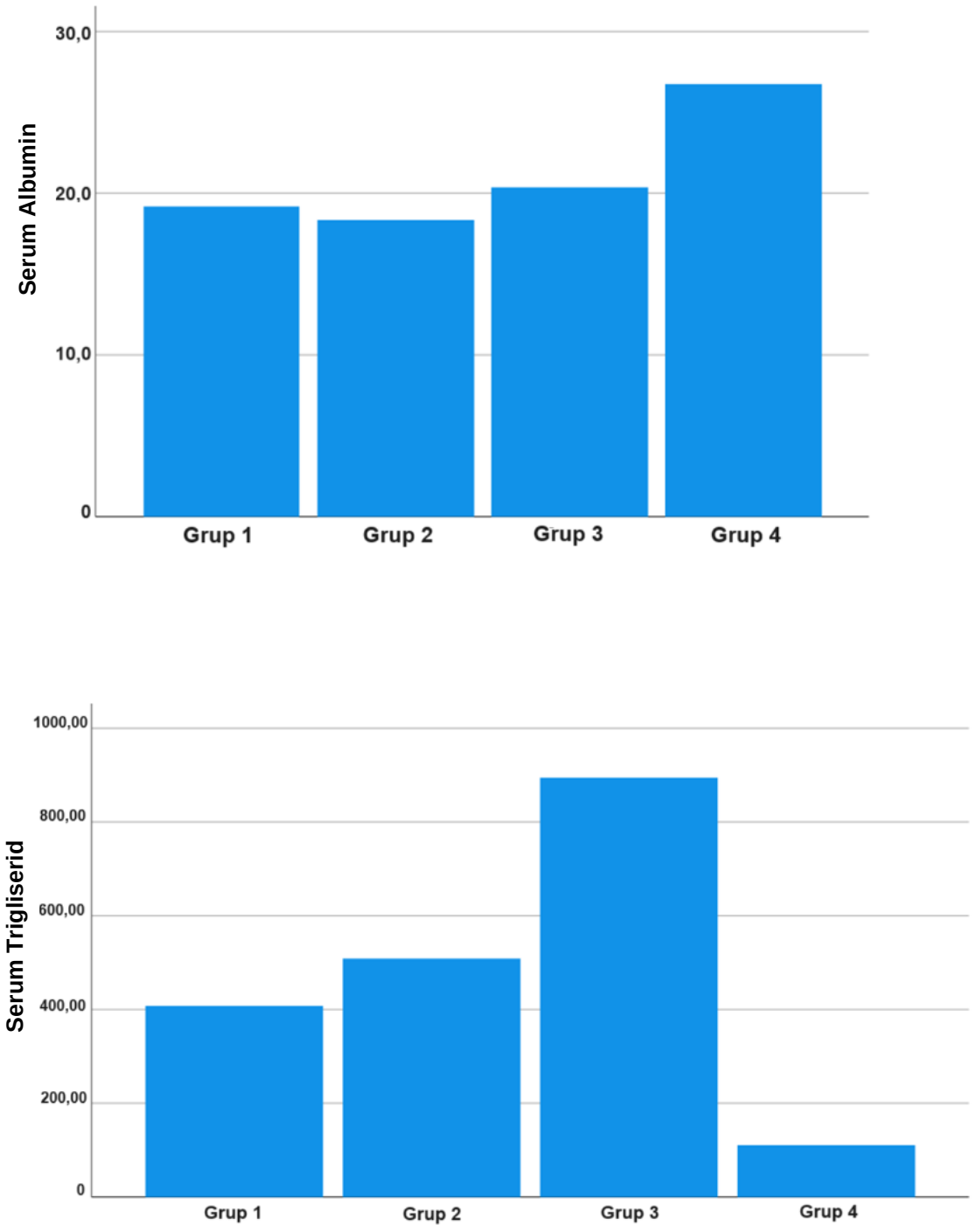
Bu çalışma, Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde gerçekleştirildi. Çalışmada, 12-14 haftalık ve 200-250 gram ağırlığında olan 48 adet dişi Wistar-Albino sıçan kullanıldı. Bu sıçanların 12 tanesi rastgele seçilerek kontrol grubu (Grup 4) olarak belirlendi. Geriye kalan 36 sıçana ise, adriamisin hidroklorürün distile su ile karıştırılması sonucu elde edilen çözelti, intraperitoneal yolla tek doz halinde 10 mg/kg olarak uygulandı ve böylece nefrotik sendrom oluşturuldu. Nefrotik sendrom oluşturulan sıçanlar, standart sıçan yemi ile 2 hafta boyunca beslendi. Bu süre sonunda, bu sıçanlar rastgele üç farklı gruba ayrıldı. Bu gruplar; Grup 1 (Adriamisin Grubu), Grup 2 (Resveratrol Grubu) ve Grup 3 (Metformin Grubu) olarak adlandırıldı.

Nefrotik sendromlu sıçanların serum albümin değerleri, kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde düşük bulundu. 25-75 persentil değerleri sırasıyla; 17,40-21,50 g/dl, 16,50-19,45 g/dl, 19,50-20,60 g/dl, 25,82-27,72 g/dl idi ve p=0,0001 olarak hesaplandı. Serum kreatinin düzeyleri (25-75 persentil değerleri sırasıyla; 0,31-0,40 mg/dl, 0,31-0,37 mg/dl, 0,34-0,42 mg/dl, 0,33-0,37 mg/dl idi ve serum total kolesterol düzeyleri (25-75 persentil değerleri sırasıyla; 157,0-325,0 mg/dl, 281,0-447,0 mg/dl, 255,0-405,0 mg/dl, 39,75-62,25 mg/dl idi ve p>0,05) ve serum trigliserid düzeyleri (25-75 persentil değerleri sırasıyla 216,0-550,0 mg/dl, 201,5-734,2 mg/dl, 281,0-1243,0 mg/dl idi ve p>0,05) açısından çalışma grupları arasında fark saptanmadı (p>0,05) (Tablo-7). Tüm gruplarda serum albümin, trigliserid ve total kolesterol değerlerinin karşılaştırılması Şekil-19'da gösterilmiştir.

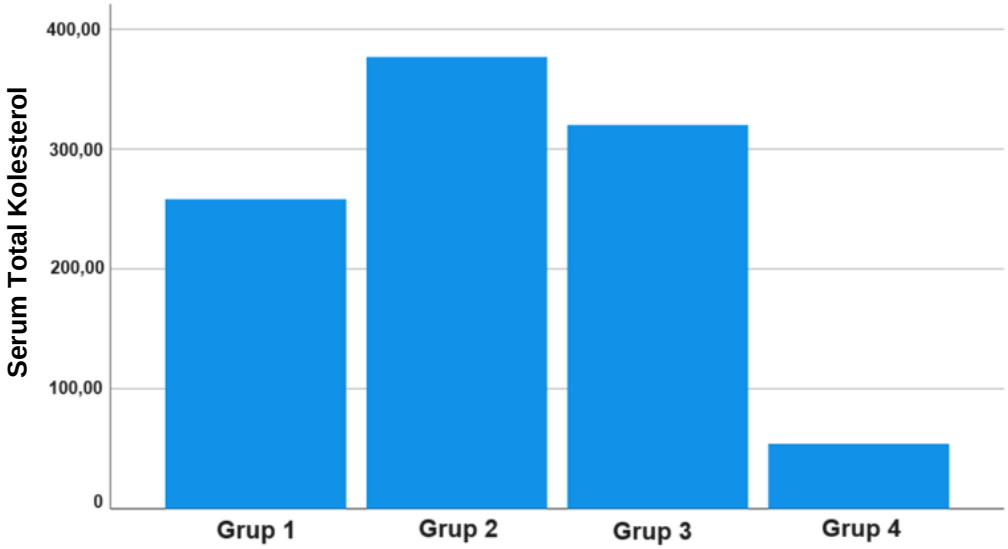
Tablo-7: Çalışma gruplarının biyokimya sonuçları

	Grup 1 (Adriamisin) (n=11)		Grup 2 (Resveratrol) (n=8)		Grup 3 (Metformin) (n=7)		Grup 4 (Kontrol) (n=10)		P
	%25	%75	%25	%75	%25	%75	%25	%75	
Kreatinin	0,31	0,40	0,31	0,37	0,34	0,42	0,33	0,37	NS
Albumin	17,40	21,50	16,50	19,45	19,50	20,60	25,82	27,72	P1= ,006 P2= ,0001 P3= ,0001 P4=NS P5=NS P6=0,001
Total Kolesterol	157,0	325,0	281,0	447,0	255,0	405,0	39,75	62,25	P1=0,001 P2=0,002 P3=0,0001 P4=NS P5=NS P6=NS
Trigliserid	216,0	550,0	201,5	734,2	281,0	1243,0	63,0	146,2	P1=0,001 P2=0,002 P3=0,0001 P4=NS P5=NS P6=0,001

Sonuçlar 25-75 persentil değerleri olarak ifade edildi. P1: Metformin ve kontrol grubu arasında, P2: Adriamisin ve kontrol grubu arasında, P3: Resveratrol ve kontrol grubu arasında, P4: Metformin ve adriamisin grubu arasında, P5: Metformin ve resveratrol grubu arasında, P6: Adriamisin ve resveratrol grubu arasında. P değerinin 0,05'ten küçük olması istatistiksel anlamlılık olarak kabul edildi.



Şekil-19: Grup 1,2 ve 3 te total kolesterol, albümin ve trigliserid değerleri benzerdi ve kontrol grubuna göre yüksekti ($p<0,05$)



Şekil-19 devamı: Grup 1,2 ve 3 te total kolesterol, albümin ve trigliserid değerleri benzerdi ve kontrol grubuna göre yüksekti ($p<0,05$)

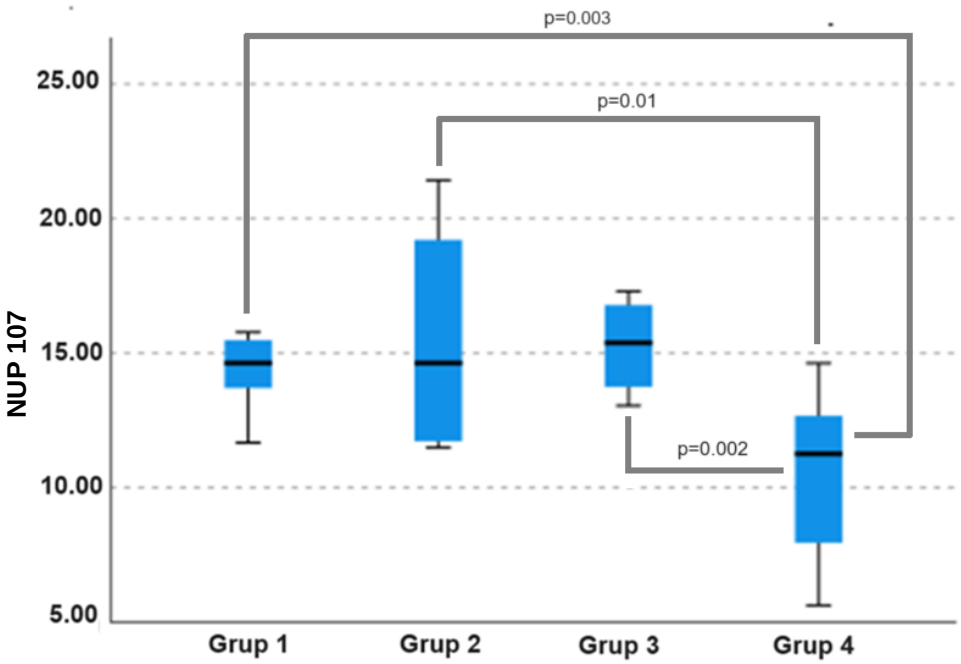
Böbrek dokusunda ölçülen NUP 107 ve NUP 93'ün yüzdelik düzeyleri Tablo-8'de, değerleri Şekil 20-21'de gösterilmiştir.

Tablo-8: Böbrek dokusu NUP 107, NUP 93 yüzdelik düzeyleri

	Grup 1 (Adriamisin) %50 (%25-%75)	Grup 2 (Resveratrol) %50 (%25-%75)	Grup 3 (Metformin) %50 (%25-%75)	Grup 4 (Kontrol) %50 (%25-%75)	P
NUP 107 (ng/ml)	14,64 (13,04-15,53)	14,64 (13,04-15,53)	15,38 (13,15-16,85)	11,25 (7,95-12,70)	P1: 0,002 P2: 0,003 P3: 0,01 P4: NS P5: NS P6: NS
NUP 93 (ng/ml)	8,27 (7,01-9,15)	8,52 (8,10-9,63)	5,67 (4,62-6,64)	4,72 (3,90-6,34)	P1: NS P2: 0,009 P3: 0,001 P4: NS P5: 0,021 P6: NS

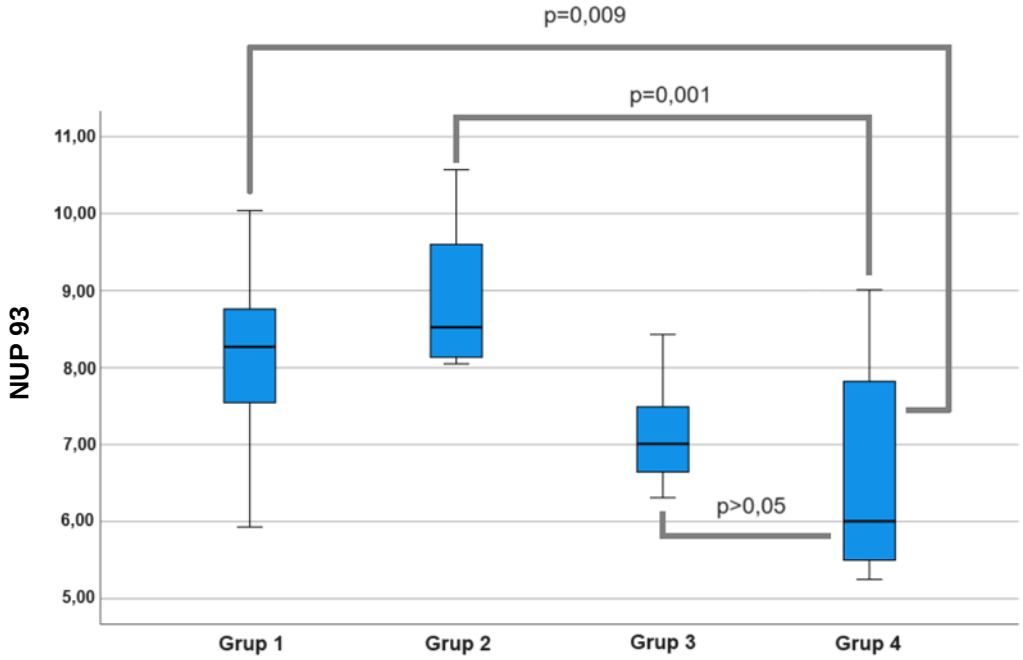
P1: Metformin ve kontrol grubu arasında, P2: Adriamisin ve kontrol grubu arasında, P3: Resveratrol ve kontrol grubu arasında, P4: Metformin ve adriamisin grubu arasında, P5: Metformin ve resveratrol grubu arasında, P6: Adriamisin ve resveratrol grubu arasında. P değerinin 0,05'ten küçük olması istatistiksel anlamlılık olarak kabul edildi.

Grup 2 (resveratrol) ve Grup 3 (metformin) gruplarındaki sıçanların böbrek dokusundaki NUP 107 düzeylerinde Grup 1 (adriamisin)'e göre anlamlı bir değişiklik bulunmadı. Grup 1, Grup 2 ve Grup 3'deki NUP 107 düzeyleri Grup 4'e göre anlamlı düzeyde yüksekti. (sırasıyla 14,64 [13,04-15,53] ng/ml, 14,64 [13,04-15,53] ng/ml, 15,38 [13,15-16,85] ng/ml, 11,25[7,95-12,70]) ng/ml Grup 1 (adriamisin) vs Grup 4 (Kontrol): p=0,003 Grup 2 (Resveratrol) vs Grup 4 (Kontrol): p=0,01; Grup 3 (Metformin) vs Grup 4 (Kontrol): p=0,002



Şekil-20: Resveratrol ve Metformin tedavileri ile böbrek dokusundaki NUP 107 düzeylerinde adriamisin grubuna göre anlamlı bir değişiklik bulunmadı. Adriamisin resveretrol ve metformin grubundaki NUP 107 düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksekti. Resveratrol vs Kontrol: p=0,01; Metformin vs Kontrol: p=0,002; Adriamisin vs Kontrol: p=0,003

Grup 1 (Adriamisin)'de NUP 93 düzeyleri grup 4 (kontrol)'e göre anlamlı olarak yüksekti (sırasıyla 8,27 [7,01-9,15] ng/ml, 4,72 [3,90-6,34] ng/ml). Resveretrol tedavisi ile NUP 93 düzeylerinde herhangi bir değişiklik olmadı. Ancak mertformin ile tedavi edilen grup 2'deki ratlarda NUP 93 düzeyleri grup 1(adriamisin)'e göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark göstermese de daha düşük bulundu. Metformin ile tedavi edilen ratlarda nup 93 düzeyleri azalarak grup 4 (kontrol) ile benzer hale geldi (sırasıyla 8,52 [8,10-9,63] ng/ml, 8,27 [7,01-9,15] ng/ml, 4,72 [3,90-6,34] ng/ml) Grup 1 (Adriamisin) vs Grup 4 (kontrol) p: 0.009; Grup 2 (Resveratrol) vs Grup 4 (kontrol) p: 0.001; Grup 3(Metformin) vs Grup 2(resveratrol) p: 0,02.



Şekil-*21*: Grup 1(Adriamisin)'de NUP 93 düzeyleri grup 4(kontrol)'e göre anlamlı olarak yüksekti. Resveretrol tedavisi ile NUP 93 düzeylerinde herhangi bir değişiklik olmadı. Ancak mertformin ile tedavi edilen grup 3'deki ratlarda NUP 93 düzeyleri grup 1(adriamisin)'e göre daha düşük bulundu ve grup 4(kontrol) ile benzer hale geldi. Grup 1(Adriamisin) vs Grup 4(kontrol) p: 0,009; Grup 2(Resveratrol) vs Grup 4(kontrol) p: 0,001; Grup 3(Metformin) vs Grup 2(resveratrol) p: 0,02; Grup 3(Metformin) vs Grup 4(Kontrol) p>0,05.

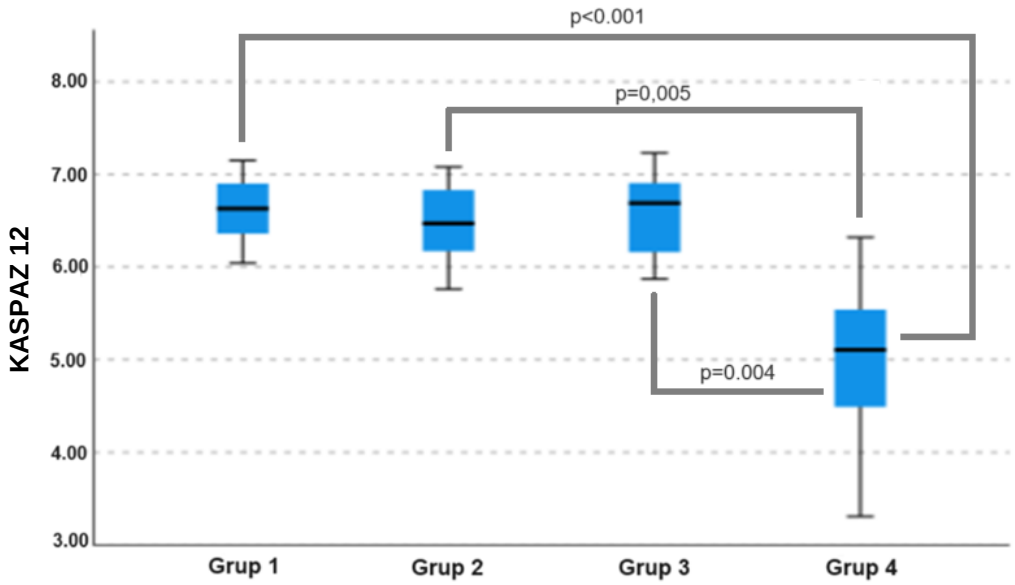
Böbrek dokusunda ölçülen Kaspaz 12 ve Kaspaz 3'ün yüzdelik düzeyleri Tablo-9'da, değerleri Şekil-22 ve Şekil-23'te gösterilmiştir.

Tablo-9: Böbrek dokusu Kaspaz 12, Kaspaz 3 yüzdelik düzeyleri

	Grup 1 (Adriamisin) %50 (%25-%75)	Grup 2 (Resveratrol) %50 (%25-%75)	Grup 3 (Metformin) %50 (%25-%75)	Grup 4 (Kontrol) %50 (%25-%75)	P
KASPAZ 12 (ng/ml)	6,63 (6,19-6,94)	6,47 (6,04-6,85)	6,69 (5,87-6,92)	5,10 (4,38-5,63)	P1: 0,004 P2: <0,001 P3: 0,005 P4: NS P5: NS P6: NS
KASPAZ 3 (ng/ml)	48,00 (46,37-48,17)	47,78 (46,37-48,05)	47,26 (45,32-48,12)	47,73 (46,46-48,13)	NS

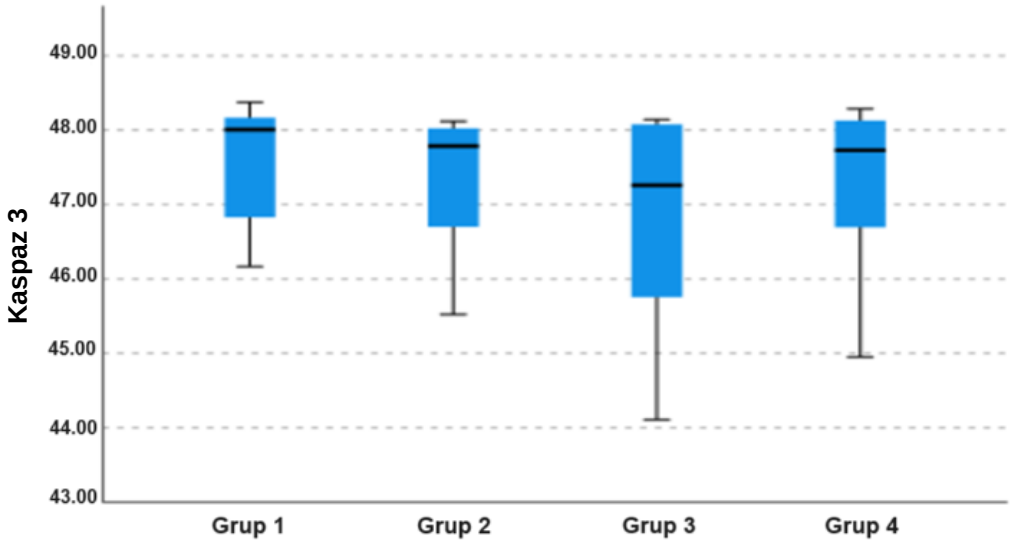
P1: Metformin ve kontrol grubu arasında, P2: Adriamisin ve kontrol grubu arasında, P3: Resveratrol ve kontrol grubu arasında, P4: Metformin ve adriamisin grubu arasında, P5: Metformin ve resveratrol grubu arasında, P6: Adriamisin ve resveratrol grubu arasında. P değerinin 0,05'ten küçük olması istatistiksel anlamlılık olarak kabul edildi.

Resveratrol ve Metformin tedavileri ile grup 2 ve grup 3'teki sıçanların böbrek doku KASPAZ 12 düzeyleri grup 4(kontrol)'e göre yüksekti (sırasıyla 6,47 [6,04-6,85] ng/ml, 6,69 [5,87-6,92] ng/ml, 5,10 [4,38-5,63] ng/ml) Resveretrol ve metformin tedavisi ile grup 2 ve grup 3'teki sıçanların kaspaz 12 düzeylerinde herhangi bir değişiklik saptanmadı. Resveratrol vs Kontrol: p=;0,005; Metformin vs Kontrol: p=0,004



Şekil-22: Resveratrol ve Metformin tedavileri ile böbrek doku KASPAZ 12 düzeyleri kontrol grubuna yüksekti. Resveretrol ve metformin tedavisi ile kaspaz 12 düzeylerinde herhangi bir değişiklik saptanmadı. Resveratrol vs Kontrol: p=0,005; Metformin vs Kontrol: p=0.004

Çalışma gruplarındaki sıçanların böbrek dokusu kaspaz-3 değerleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla; 48,00 [46,37-48,17)]ng/ml, 47,78 [46,37-48,05] ng/ml, 47,26 (45,32-48,12) ng/ml, 47,73[46,46-48,13]ng/ml, p>0,05).



Şekil-23: Çalışma gruplarındaki sıçanların böbrek dokusu kaspaz-3 değerleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

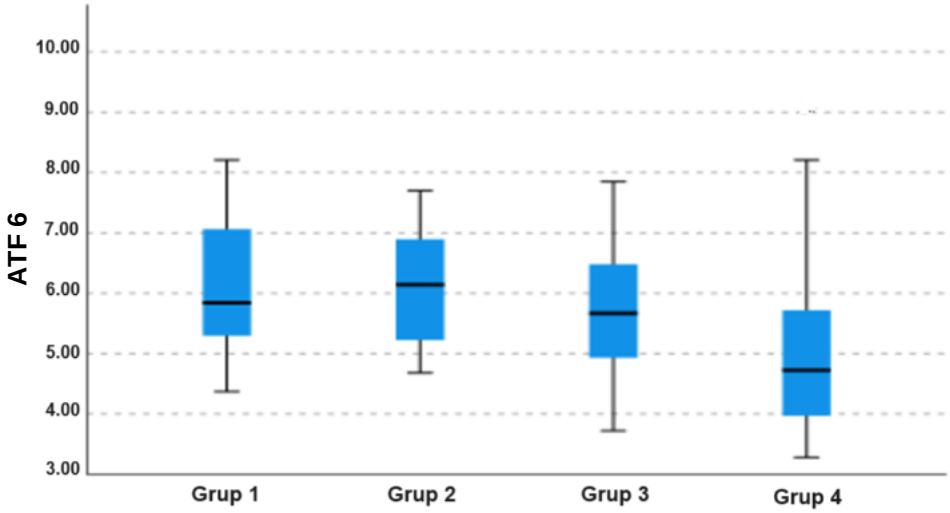
Böbrek dokusunda ölçülen ATF 6 ve IRE 1'in yüzdelik düzeyleri Tablo-10'da, değerleri Şekil-24 ve Şekil-25'te gösterilmiştir.

Tablo-10: Böbrek dokusu ATF 6, IRE 1 yüzdelik düzeyleri

	Grup 1 (Adriamisin) %50 (%25-%75)	Grup 2 (Resveratrol) %50 (%25-%75)	Grup 3 (Metformin) %50 (%25-%75)	Grup 4 (Kontrol) %50 (%25-%75)	P
ATF6 (ng/ml)	5,84 (5,08-7,09)	6,14 (5,08-7,06)	5,67 (4,62-6,64)	4,72 (3,90-6,34)	NS
IRE 1 (ng/ml)	490,25 (452,65-589,98)	438,41 (343,79-466,62)	350,93 (333,73-390,21)	272,08 (238,54-341,43)	P1: NS P2=0,0001 P3: 0,031 P4=0,057 P5: NS P6: NS

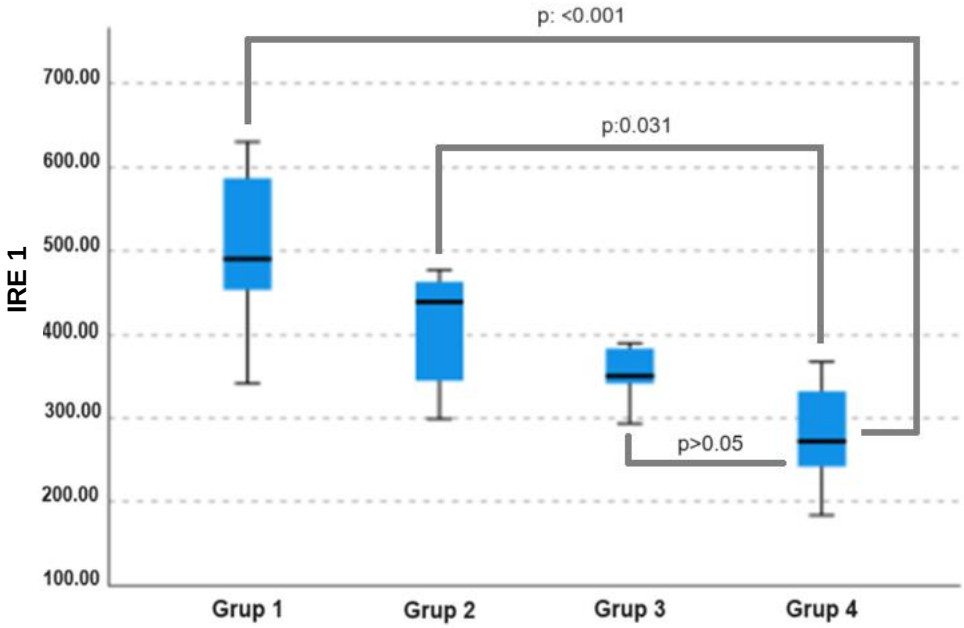
P1: Metformin ve kontrol grubu arasında, P2: Adriamisin ve kontrol grubu arasında, P3: Resveratrol ve kontrol grubu arasında, P4: Metformin ve adriamisin grubu arasında, P5: Metformin ve resveratrol grubu arasında, P6: Adriamisin ve resveratrol grubu arasında. P değerinin 0,05'ten küçük olması istatistiksel anlamlılık olarak kabul edildi.

Çalışma gruplarındaki sıçanların böbrek dokusu ATF 6 değerleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla; 5,84 [5,08-7,09] ng/ml, 6,14 [5,08-7,06] ng/ml, 5,67[4,62-6,64] ng/ml, 4,72 [3,90-6,34] ng/ml, p>0,05).



Şekil-24: Çalışma gruplarındaki sıçanların böbrek dokusu ATF 6 değerleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı

Grup 1(Adriamisin)'de İRE 1 düzeyleri grup 4(kontrol)'e göre yüksekti(sırasıyla 490,25 [452,65-589,98] ng/ml, 272,08 [238,54-341,43] ng/ml) . Resveretrol ile tedavi edilen grup 2'deki ratlarda İRE 1 düzeyleri grup 1(adriamisin) ile benzerdi ancak grup 4(kontrol)'e göre yüksekti.(sırasıyla 438,41 [343,79-466,62] ng/ml, 490,25 [452,65-589,98] ng/ml, 272,08 [238,54-341,43] ng/ml). Metfromin ile tedavi edilen grup 3'teki ratlarda IRE 1 düzeyinde Grup 1(Adriamisin)'e göre düşüş saptandı(saptana düşüş istatistiksel olarak anlamlı olmasa da anlam düzeyi p=0,057 idi.) ve grup 4(kontrol) ile benzer hale geldi.(Sırasıyla 350,93 [333,73-390,21] ng/ml, 490,25 [452,65-589,98] ng/ml, 272,08 [238,54-341,43] ng/ml) Grup 1(Adriamisin) vs Grup 4(kontrol) p: <0,001; Grup2(Resveratrol) vs Grup 4(kontrol) p:0,031.

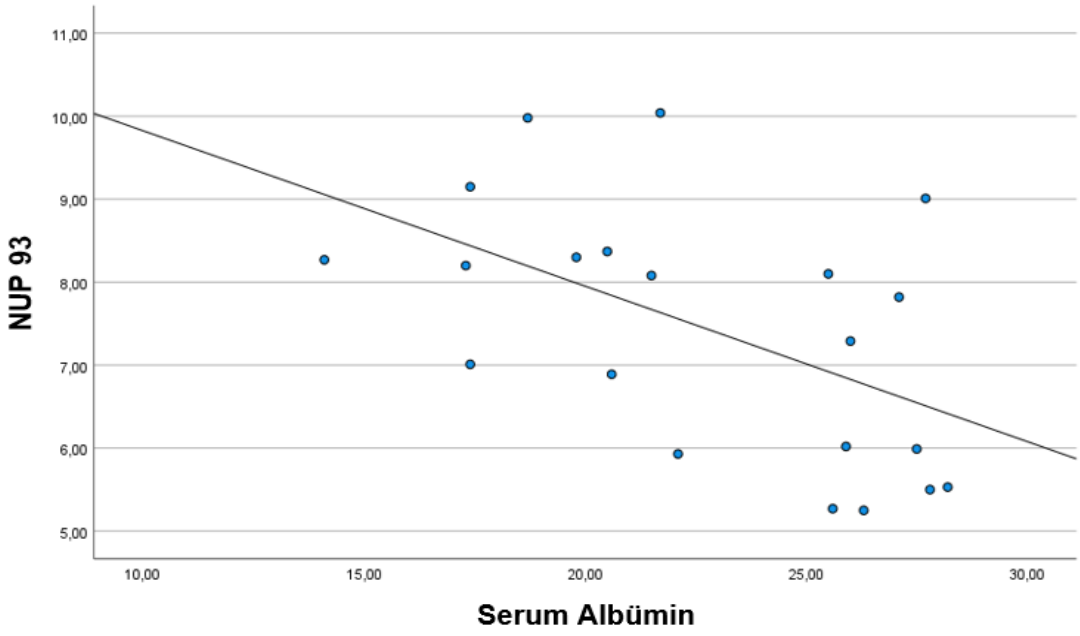


Şekil-25: Grup 1(Adriamisin)'de İRE 1 düzeyleri grup 4(kontrol)'e göre yüksekti. Resveretrol ile tedavi edilen grup 2'deki ratlarda İRE 1 düzeyleri grup 1(adriamisin) ile benzerdi. Ancak grup 4(kontrol)'e göre yüksekti. Metfromin ile tedavi edilen grup 3'teki ratlarda IRE 1 düzeyinde Grup 1(Adriamisin)'e göre düşüş saptandı ve grup 4(kontrol) ile benzer hale geldi. Grup 1(Adriamisin) vs Grup 4(kontrol) p: <0,001; Grup2(Resveratrol) vs Grup 4(kontrol) p:0,31

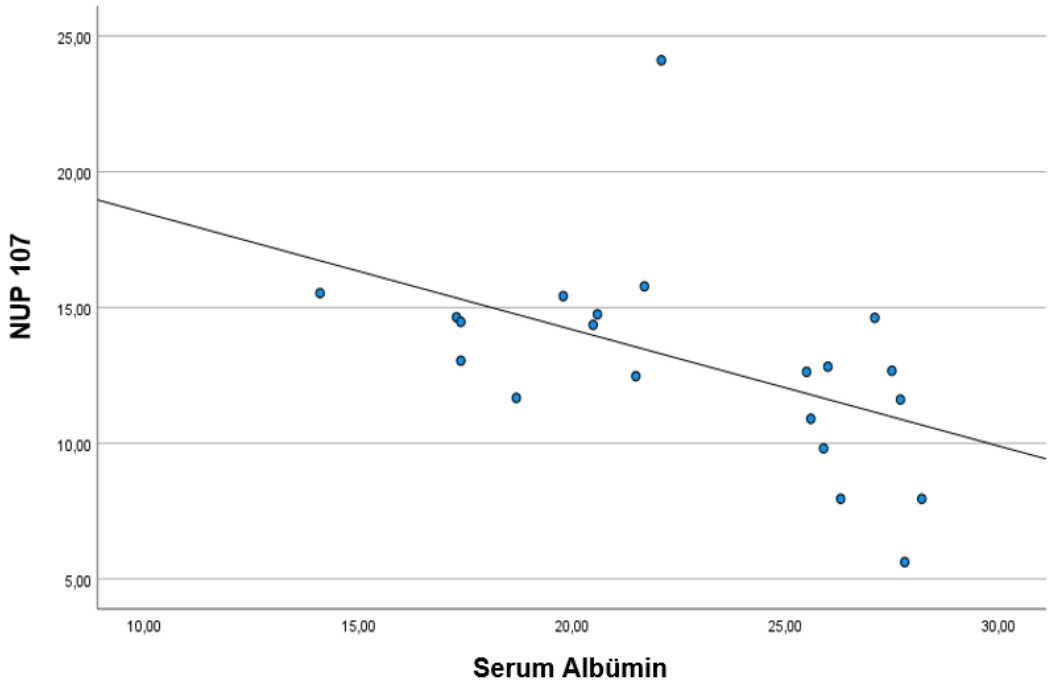
Korelasyon Analizleri

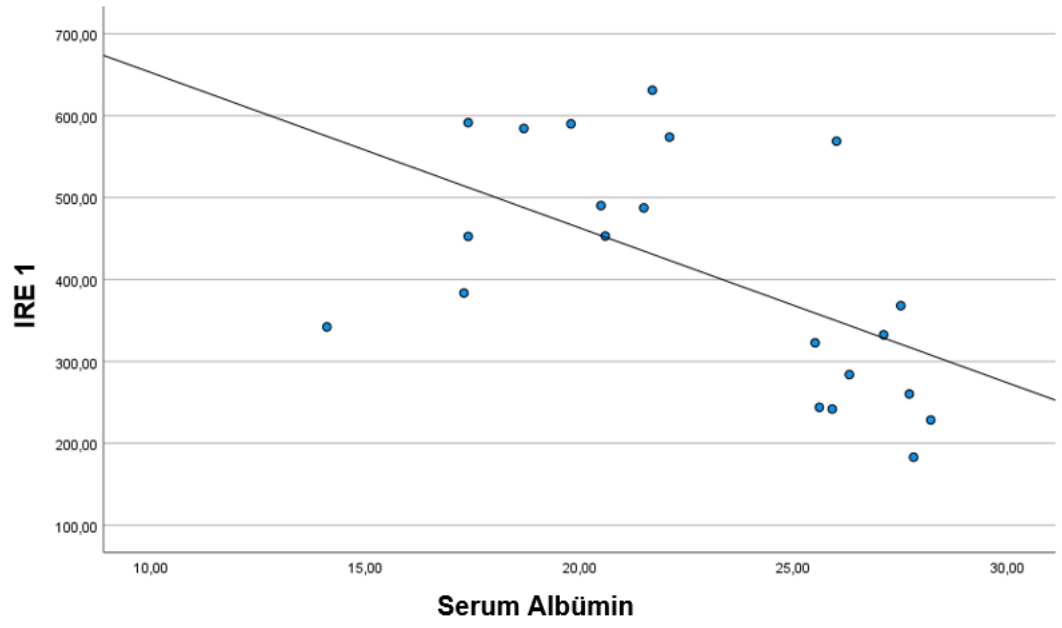
Adriamisin kullanılarak deneysel NS oluşturulan sıçanlarda, çeşitli parametreler ölçülmüş ve skorlanmıştır. Bu parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyonlar bulunmuştur.

Adriamisin ile deneysel NS oluşturulan sıçanlarda (Grup 1,2 ve 3) serum albümini ile NUP 93, NUP 107, IRE 1 ve KASPAZ 12 arasında negatif bir korelasyon bulundu (Şekil-26).

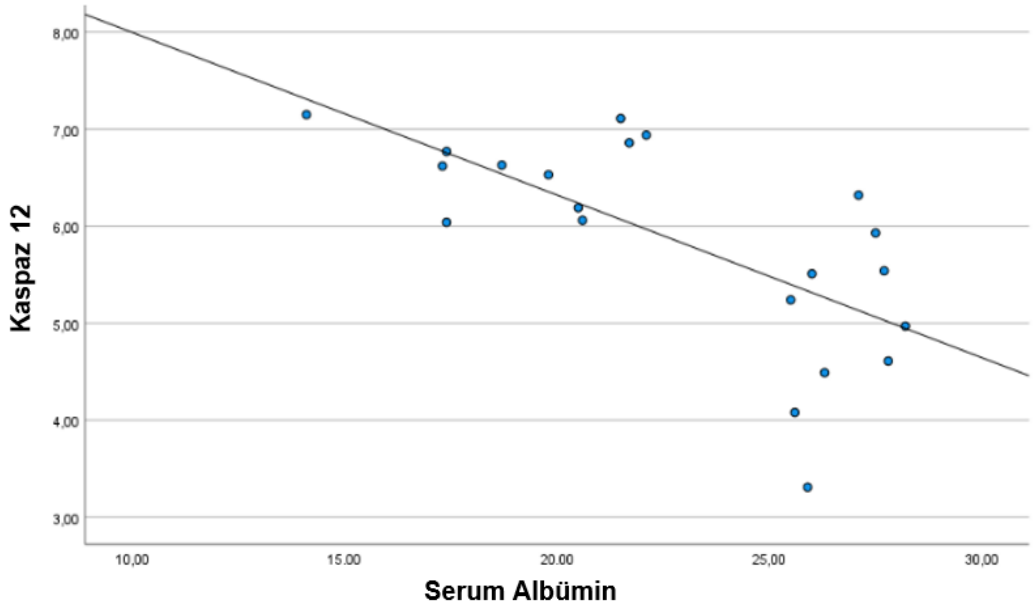


Şekil-26: Deneysel NS oluşturulan ratlarda serum albümin düzeylerindeki azalma, NUP 93, NUP 107, IRE 1, KASPAZ 12 artışı ile birliktedir.



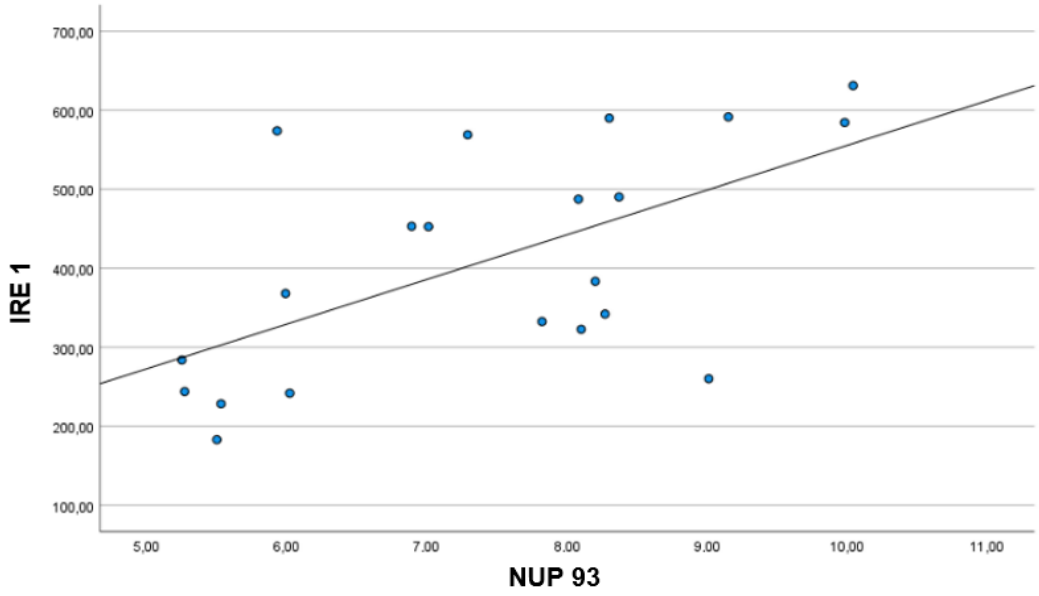


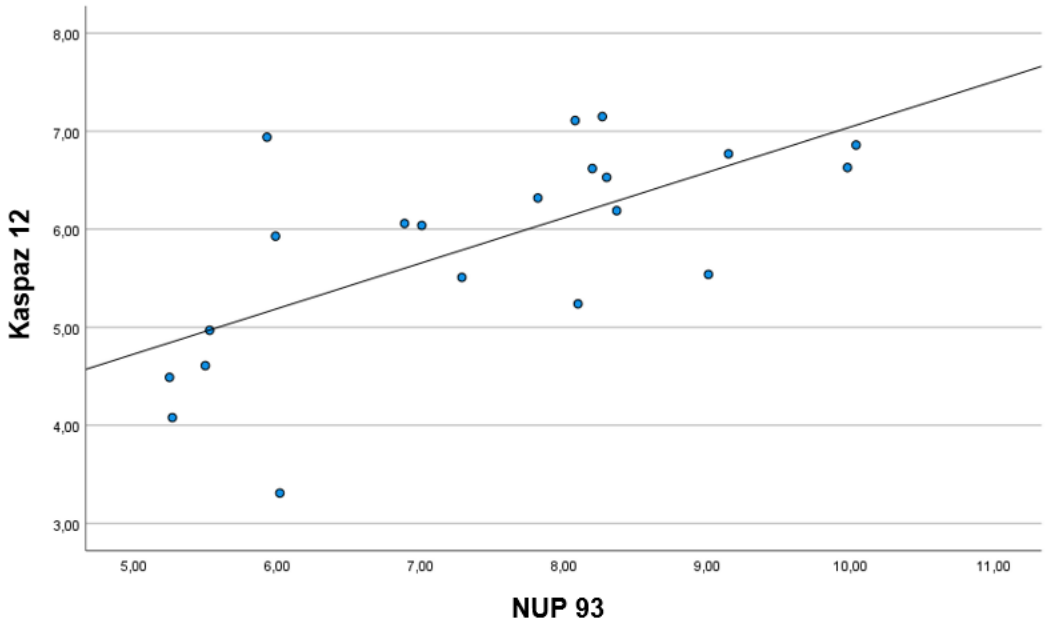
Şekil-26 devamı: Deneysel NS oluşturulan ratlarda serum albümin düzeylerindeki azalma, NUP 93, NUP 107, IRE 1, KASPAZ 12 artışı ile birliktedir.



Şekil-26 devamı: Deneysel NS oluşturulan ratlarda serum albümin düzeylerindeki azalma, NUP 93, NUP 107, IRE 1, KASPAZ 12 artışı ile birliktedir.

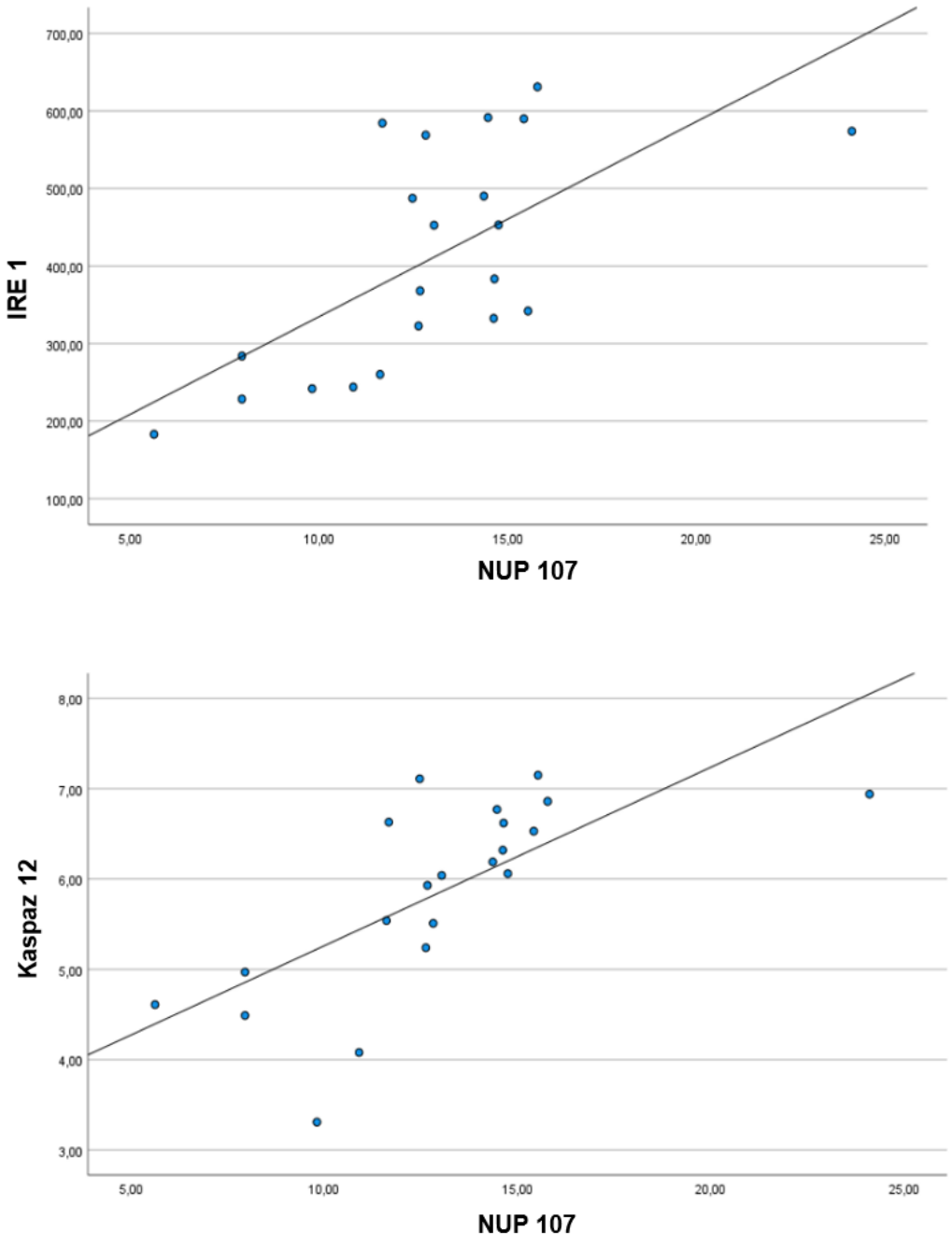
Adriamisin ile deneysel NS oluşturulan sıçanlarda (Grup 1,2 ve 3) NUP 93 ile IRE 1 ve KASPAZ 12 arasında pozitif bir korelasyon bulundu (Şekil-27).





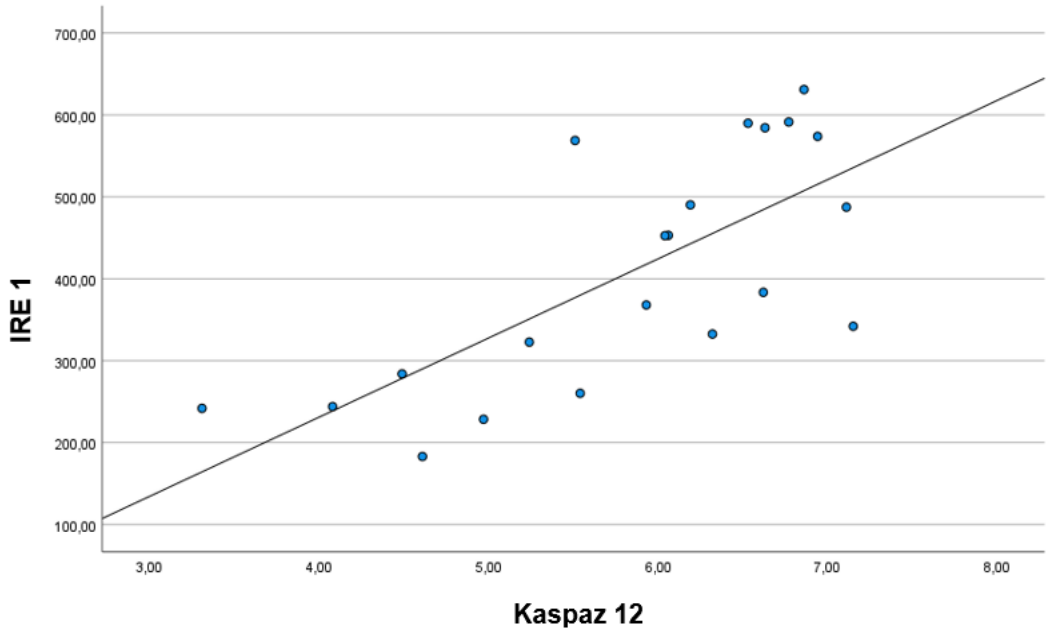
Şekil-27: Deneysel NS oluşturulan ratlarda NUP 93 düzeylerindeki artış, IRE 1, KASPAZ 12 artışı ile birliktedir.

Adriamisin ile deneysel NS oluşturulan sıçanlarda (Grup 1,2 ve 3) NUP 107 ile IRE 1 ve KASPAZ 12 arasında pozitif bir korelasyon bulundu (Şekil-28).



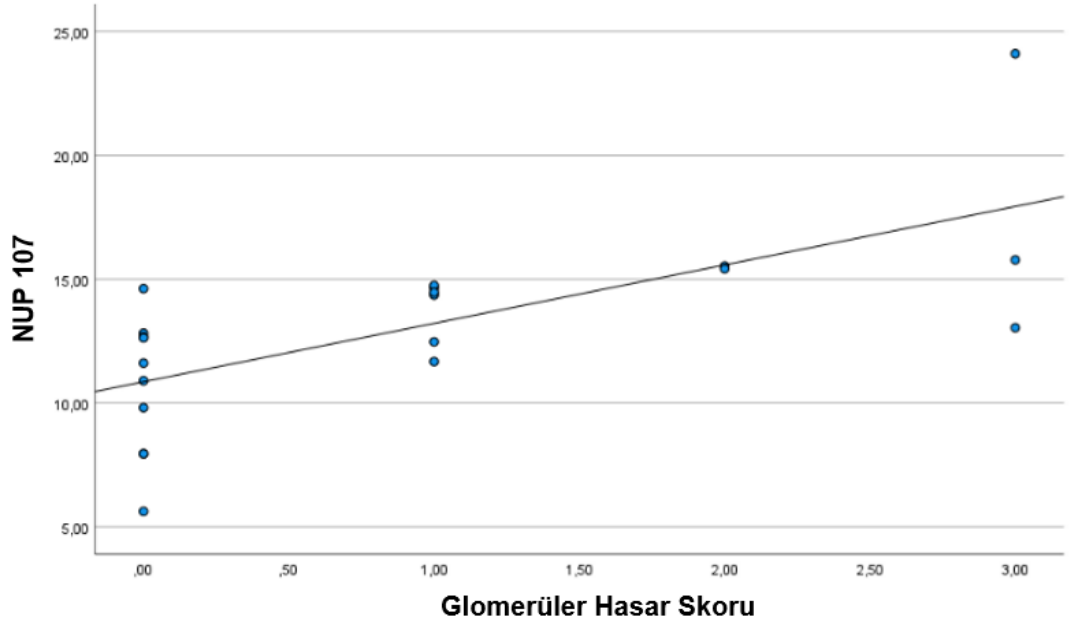
Şekil-28: Deneysel NS oluşturulan ratlarda NUP 107 düzeylerindeki artış, IRE 1, KASPAZ 12 artışı ile birliktedir.

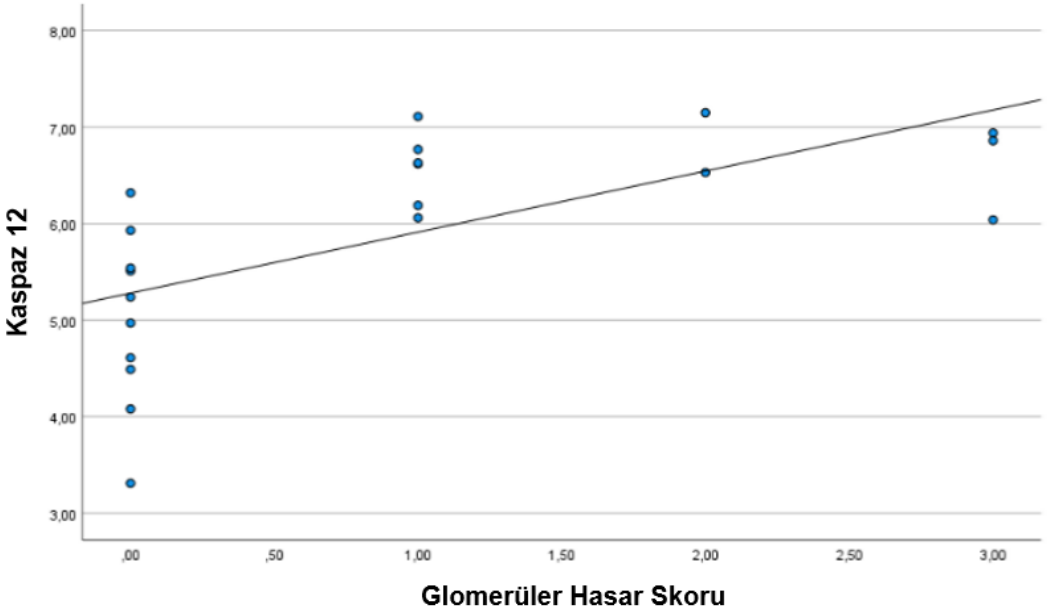
Adriamisin ile deneysel NS oluşturulan sıçanlarda (Grup 1,2 ve 3) IRE1 ile KASPAZ 12 arasında pozitif bir korelasyon bulundu (Şekil-29).



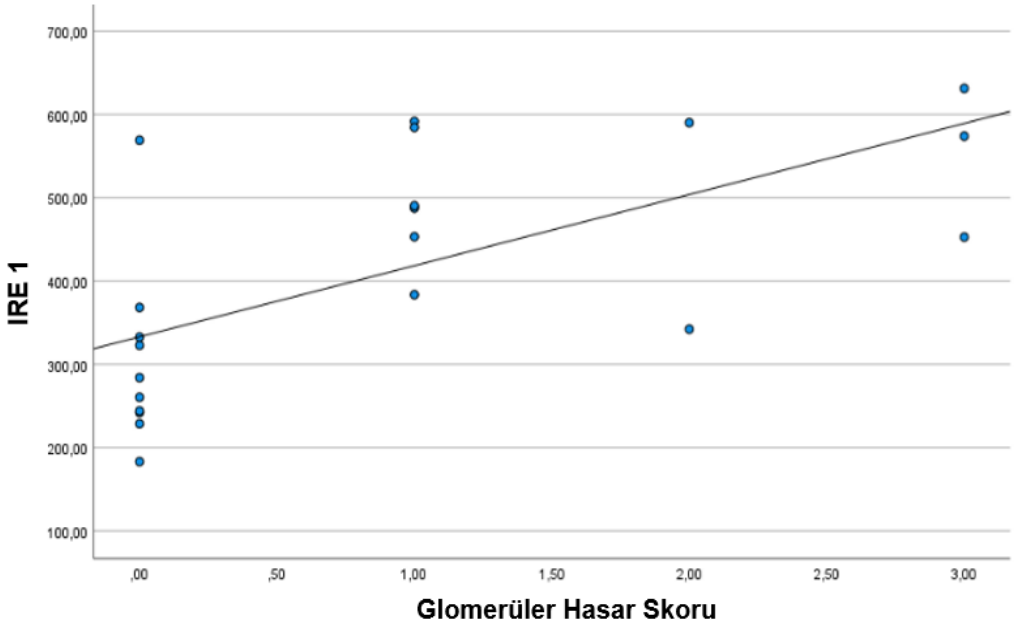
Şekil-29: Deneysel NS oluşturulan ratlarda IRE 1 düzeylerindeki artış KASPAZ 12 artışı ile birliktedir.

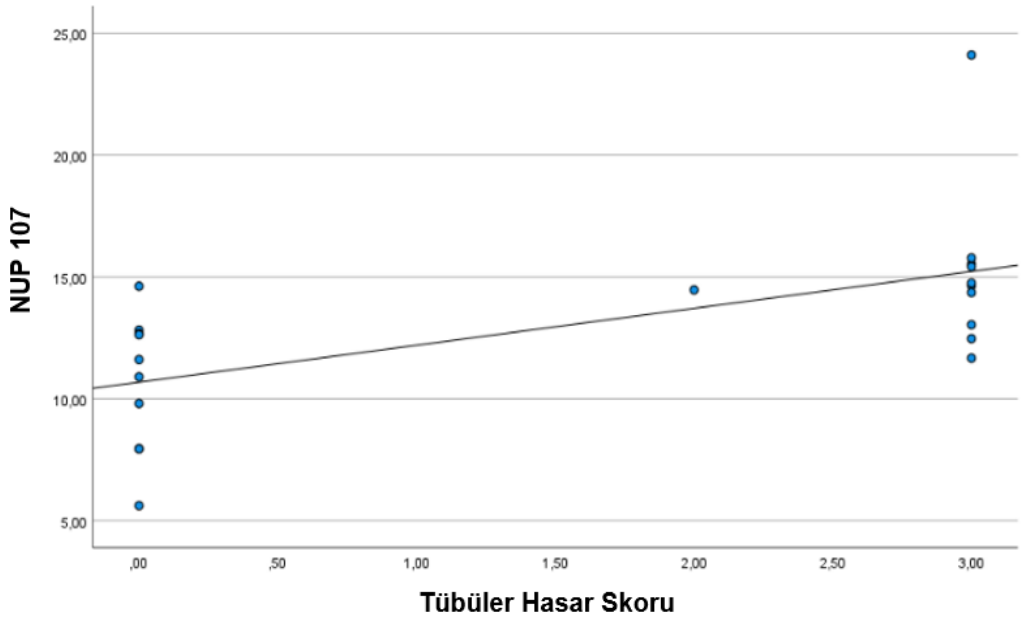
Glomerüler, tübüler ve interstisyel hasar skorları ile NUP-107, IRE-1 ve kaspaz-12 arasında pozitif korelasyon saptandı (Şekil-30).



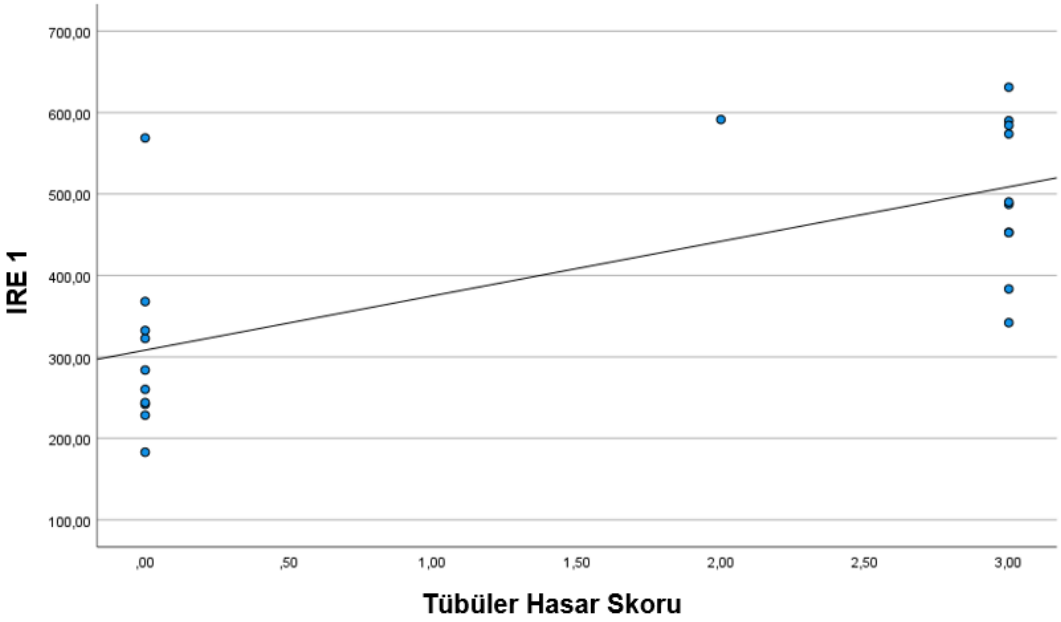


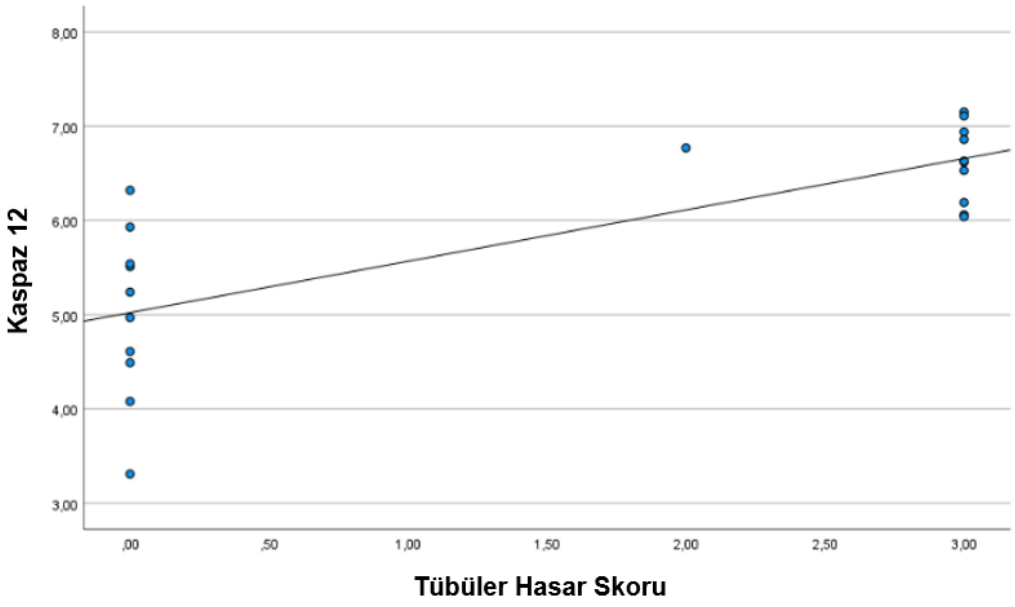
Şekil-30: Deneysel NS oluşturulan ratlarda IRE 1, KASPAZ 12, NUP 107 artışı glomerüler, tübüler ve interstisyel hasar skoru artışı artışı ile birliktedir.



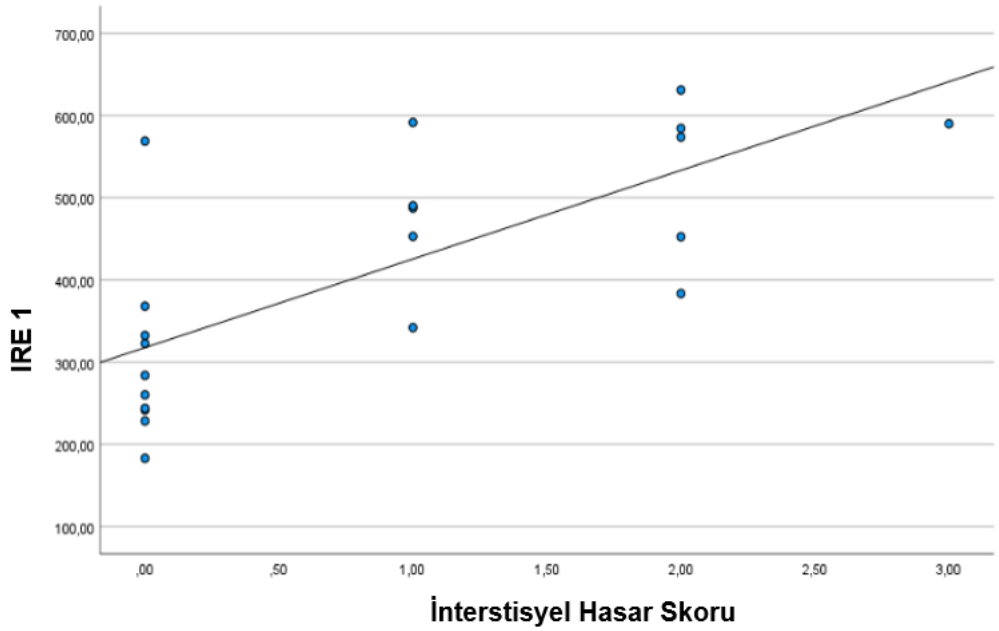


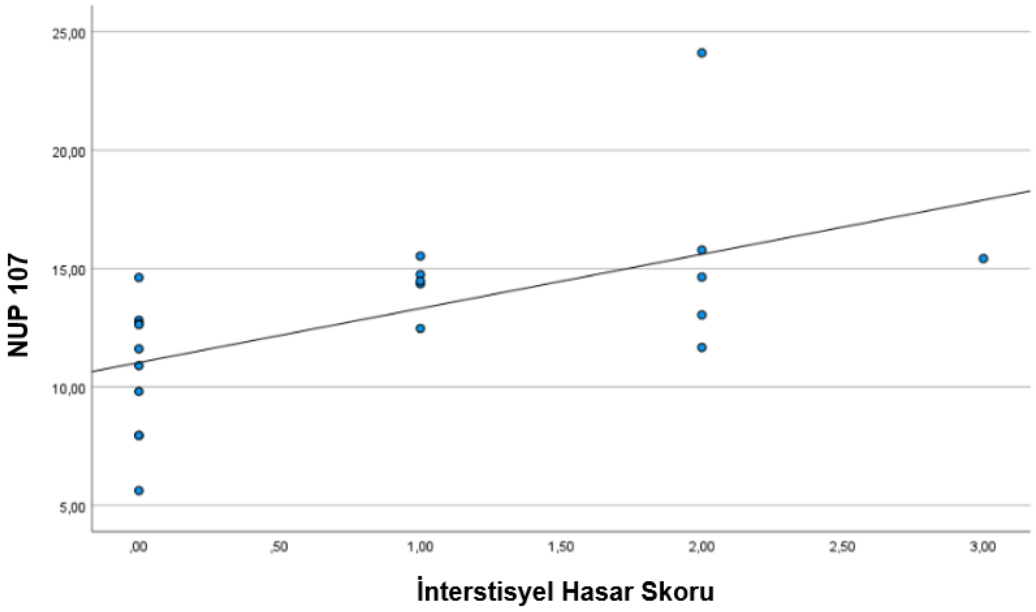
Şekil-30 devamı: Deneysel NS oluşturulan ratlarda IRE 1, KASPAZ 12, NUP 107 artışı glomerüler, tübüler ve interstisyel hasar skoru artışı artışı ile birliktedir.



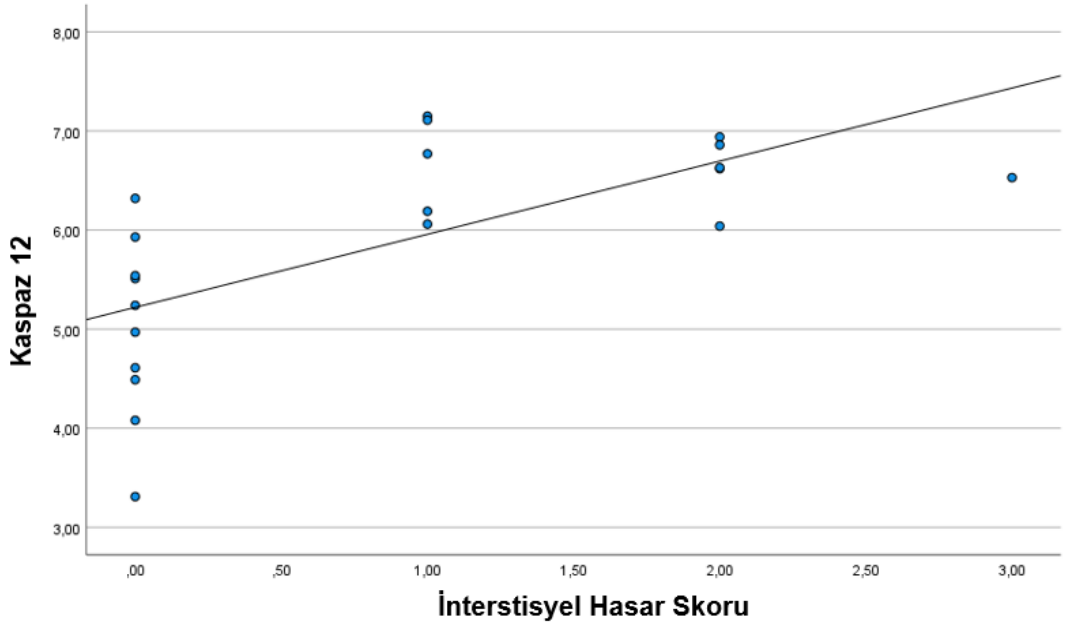


Şekil-30 devamı: Deneysel NS oluşturulan ratlarda IRE 1, KASPAZ 12, NUP 107 artışı glomerüler, tübüler ve interstisyel hasar skoru artışı artışı ile birliktedir.





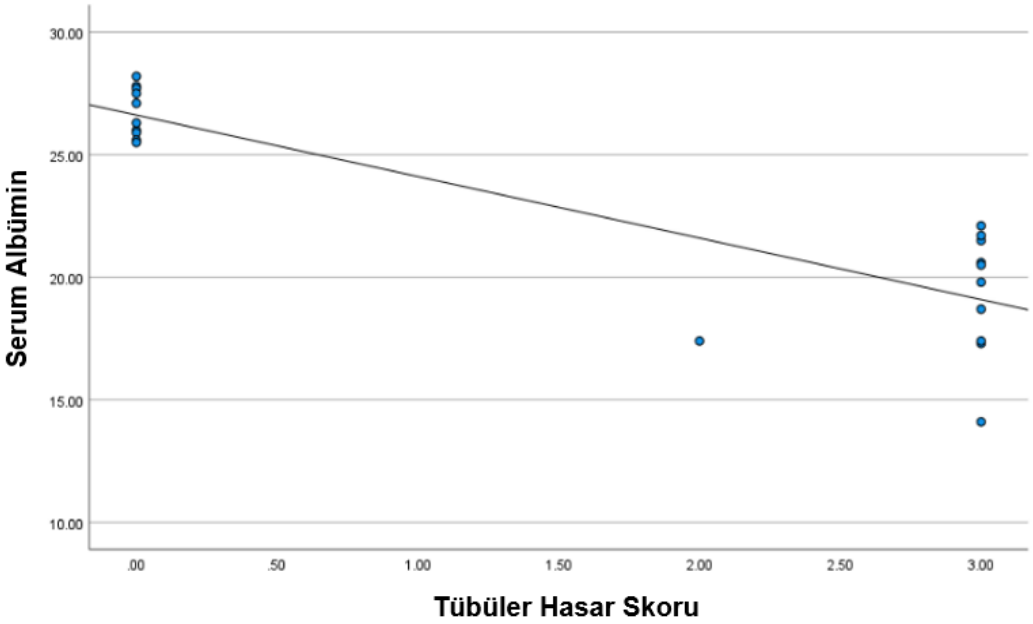
Şekil-30 devamı: Deneysel NS oluşturulan ratlarda IRE 1, KASPAZ 12, NUP 107 artışı glomerüler, tübüler ve interstisyel hasar skoru artışı artışı ile birliktedir.

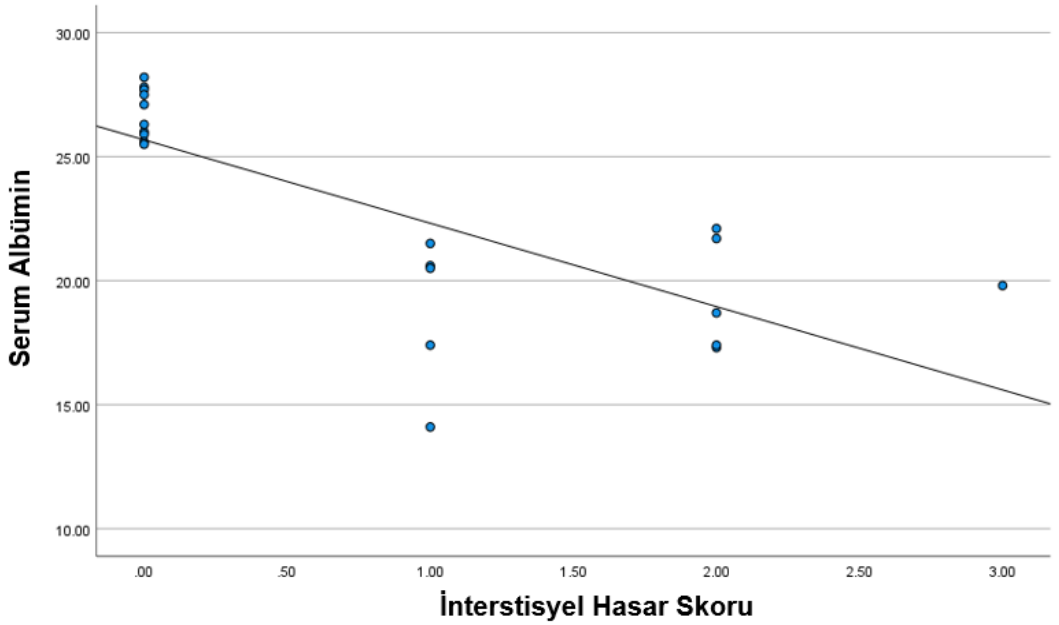


Şekil-30 devamı: Deneysel NS oluşturulan ratlarda IRE 1, KASPAZ 12, NUP 107 artışı glomerüler, tübüler ve interstisyel hasar skoru artışı artışı ile birliktedir.

Serum albümin ile glomerüler, tübüler ve interstisyel hasar skoru arasında negatif bir korelasyon bulundu (Şekil-31).

Şekil-31: Deneysel NS oluşturulan ratlarda glomerüler, tübüler ve interstisyel hasar skoru artışı serum albümin azalışı ile birliktedir





Şekil-31 devamı: Deneysel NS oluşturulan ratlarda glomerüler, tübüler ve interstisyel hasar skoru artışı serum albümin azalışı ile birliktedir.

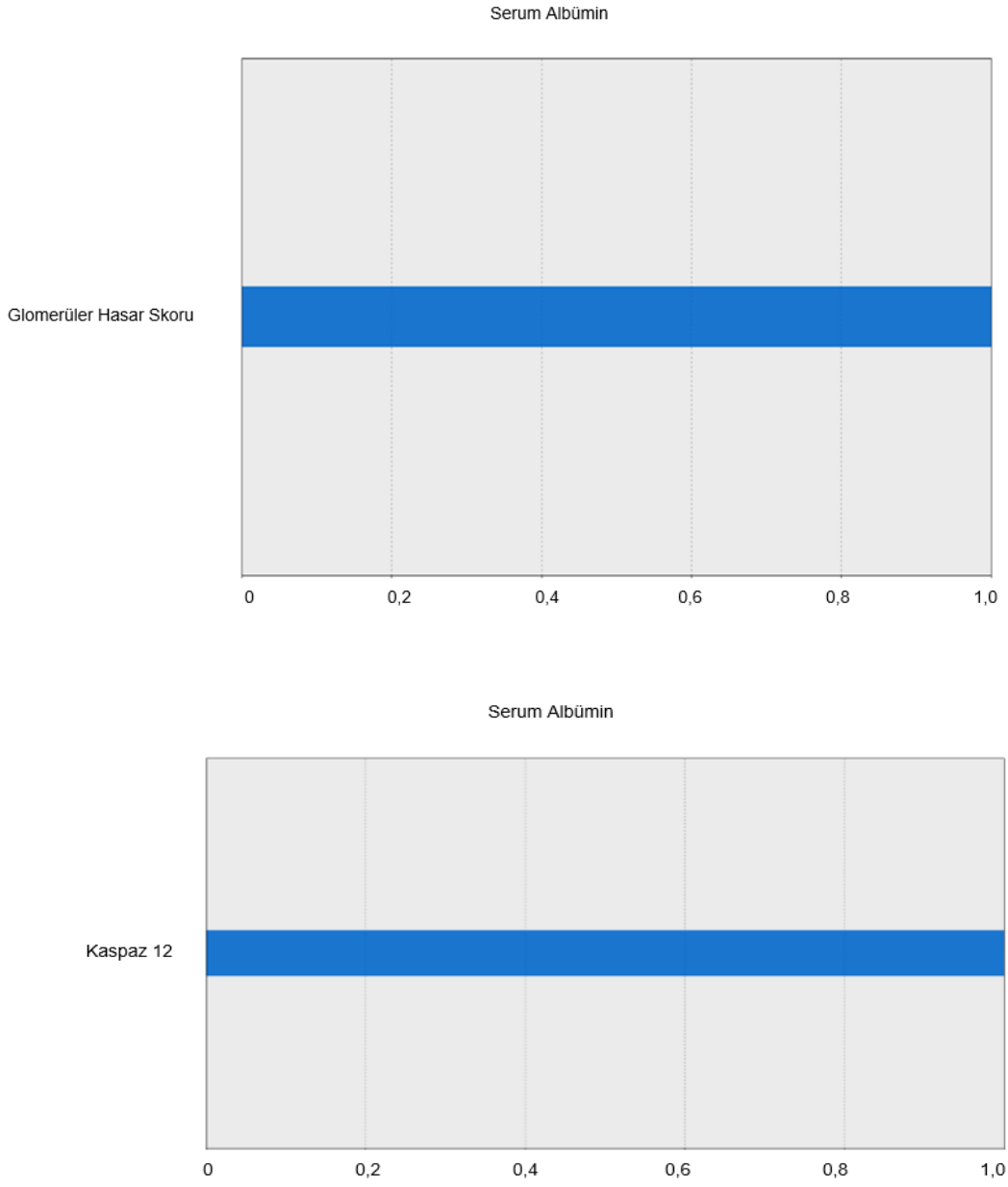
Regresyon Analizi

Serum albümin, total kolesterol, trigliserid ve glomerüler, tübüler ve interstisyel hasar skorları üzerindeki regresyon analizi sonuçları Tablo-11'de gösterilmiştir.

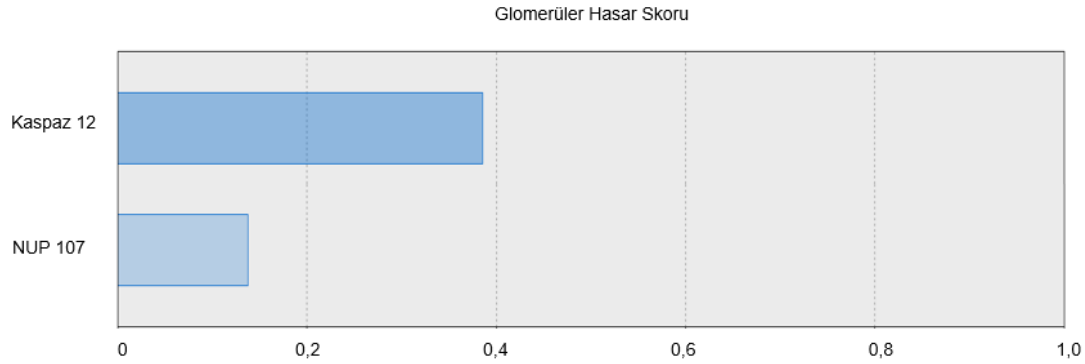
Tablo-11: Serum albümin, total kolesterol, trigliserid ve glomerüler, tübüler ve interstisyel hasar skorları üzerindeki regresyon analizi sonuçları.

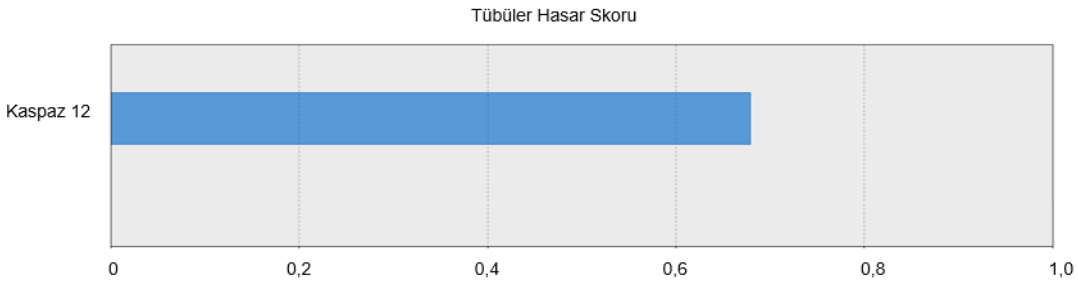
Değişken	Belirleyiciler	Beta	t	p
Serum Albümin	Tübüler Hasar Skoru	- 0,878	- 8,002	<0,001
	Kaspaz-12	- 0,675	- 3,993	<0,001
Serum Total Kolesterol	Tübüler Hasar Skoru	0,788	5,579	<0,001
	IRE-1	0,558	2,931	0,009
Serum Trigliserid	İnterstisyel Hasar Skoru	0,736	4,732	<0,001
	IRE-1	0,545	2,833	0,011
Glomerüler Hasar Skoru	Kaspaz -12	0,522	2,316	0,034
	NUP -107	0,405	2,292	0,036
Tübüler Hasar Skoru	Kaspaz -12	0,849	4,912	<0,001
İnterstisyel Hasar Skoru	IRE-1	0,724	4,571	<0,001
	Kaspaz -12	0,742	4,094	<0,001
	NUP-93	0,561	2,557	0,020

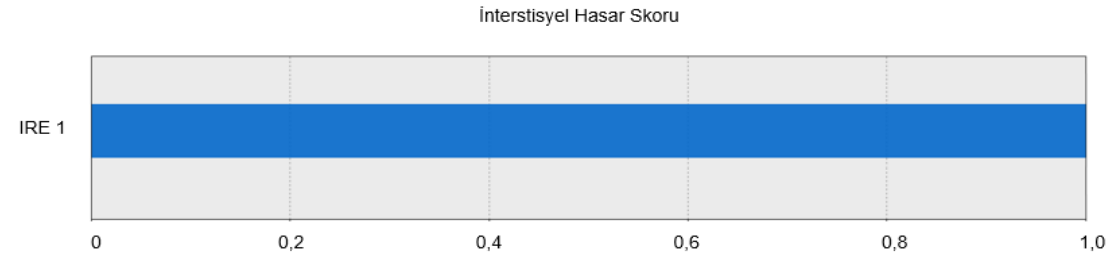
Regresyon analizine göre, serum albümin seviyelerini etkileyen en güçlü faktör glomerüler hasar skorlarıydı. Ayrıca, ölçülen parametreler arasında serum albümin seviyeleri üzerinde en önemli etkiye sahip olan protein caspase-12 idi. (Şekil-32).



Şekil-32: Regresyon analizine göre, glomerüler hasar skorları ile serum albümin seviyeleri, serum albümin seviyeleri ile kaspaz-12, tubular hasar skoru ile kaspaz 12 ve interstisyel hasar skoru ile IRE 1 arasındaki ilişki







Şekil-32 devam: Regresyon analizine göre, glomerüler hasar skorları ile serum albümin seviyeleri, serum albümin seviyeleri ile kaspaz-12, tubular hasar skoru ile kaspaz 12 ve interstisyel hasar skoru ile IRE 1 arasındaki ilişki

Tablo-12'de sunulan korelasyonlar, deneysel çalışmanın sonuçlarını daha iyi anlamamıza yardımcı olabilir.

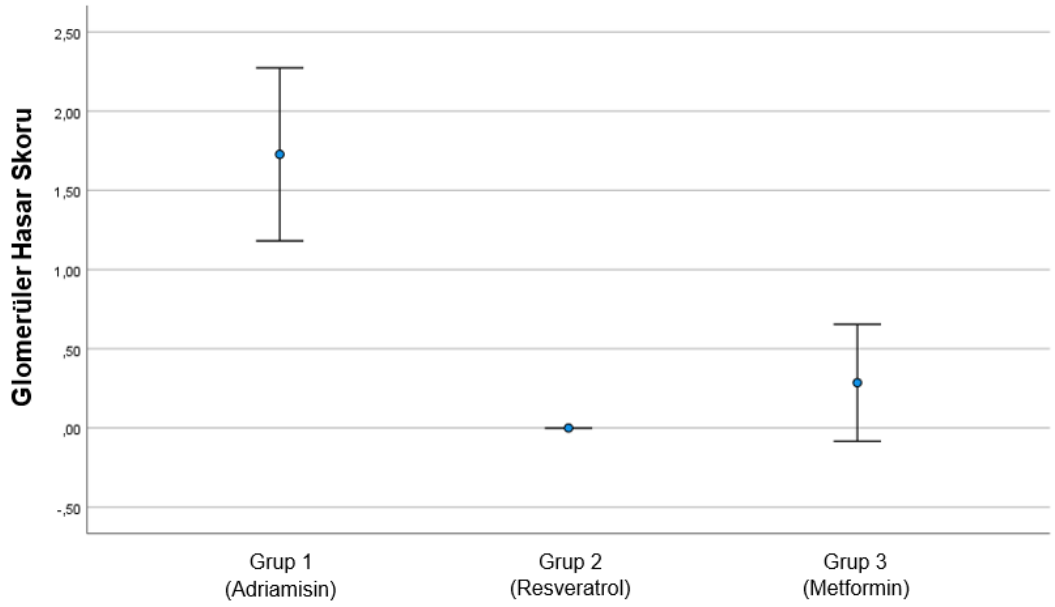
Tablo-12: Deneysel nefrotik sendrom oluşturulan sıçanlarda ölçülen / skorlanan parametreler arasındaki korelasyonlar.

	KASPAZ-3 DOKU (r / p)	KASPAZ-12 DOKU (r / p)	NUP-93 DOKU (r / p)	NUP-107 DOKU (r / p)	ATF-6 DOKU (r / p)	IRE-1 DOKU (r / p)	GLOMERUL HASAR SKORU (r / p)	TUBULER HASAR SKORU (r / p)	İNTERSTİSYEL HASAR SKORU (r / p)	SERUM ALBUMİN (r / p)
KASPAZ-3 DOKU										
KASPAZ-12 DOKU			0,625 0,002	0,759 <0,001	0,656 0,001	0,730 <0,001	0,780 <0,001	0,790 <0,001	0,738 <0,001	-0,657 0,001
NUP-93 DOKU		0,625 0,002		0,470 0,032	0,744 <0,001	0,634 0,002	0,459 0,036	0,500 0,021	0,520 0,016	-0,547 0,01
NUP-107 DOKU		0,759 <0,001	0,470 0,032		0,437 0,048	0,708 <0,001	0,756 0,001	0,685 <0,001	0,685 <0,001	-0,611 0,003
ATF-6 DOKU	,	0,656 0,001	0,744 <0,001	0,437 0,048						
IRE-1 DOKU		0,730 <0,001	0,634 0,002	0,708 <0,001			0,723 <0,001	0,701 <0,001	0,759 <0,001	
GLOMERUL HASAR SKORU		0,780 <0,001	0,459 0,036	0,756 0,001		0,723 <0,001		0,930 <0,001	0,936 <0,001	-0,775 <0,001
TUBULER HASAR SKORU		0,790 <0,001	0,500 0,021	0,685 <0,001		0,701 <0,001	0,930 <0,001		0,935 <0,001	-0,826 <0,001
İNTERSTİSYEL HASAR SKORU		0,738 <0,001	0,520 0,016	0,685 <0,001		0,759 <0,001	0,936 <0,001	0,935 <0,001		-0,795 <0,001
SERUM ALBUMİN		-0,657 0,001	-0,547 0,01	-0,611 0,003			-0,775 <0,001	-0,826 <0,001	-0,795 <0,001	

Patolojik Değerlendirmeler

Adriamisin kullanılarak deneysel nefrotik sendrom yaratılan sıçanlardan alınan böbrek doku örnekleri, tübüler hasar derecelerine göre puanlandırıldı ve patolojik açıdan değerlendirildi.

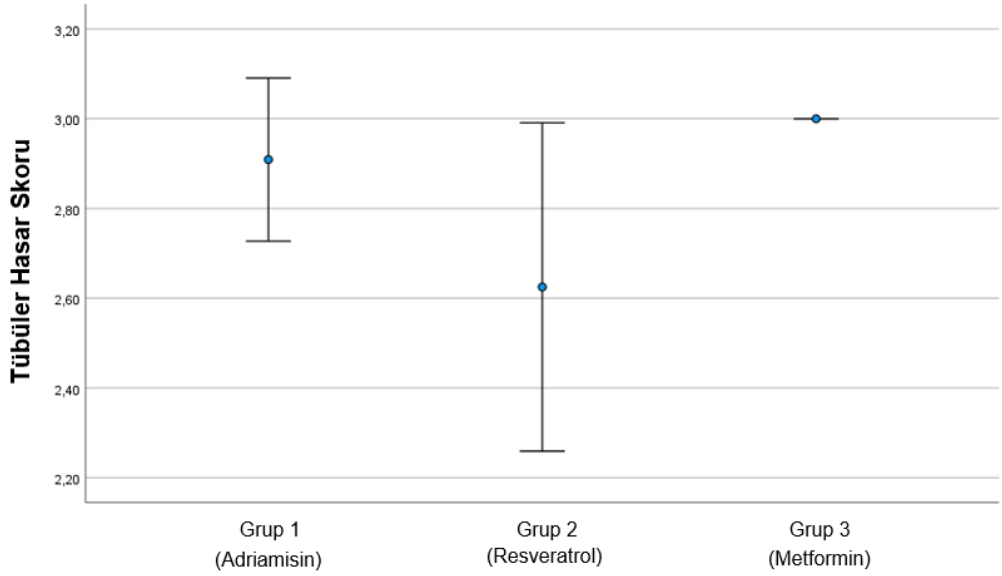
Resveratrol ile tedavi edilen Grup 2'deki sıçanların glomerüler hasar puanları (ortanca 0, en düşük 0, en yüksek 0), adriamisin grubundaki sıçanların glomerüler hasar puanlarına (ortanca 1,72; en düşük 1, en yüksek 3) kıyasla belirgin bir şekilde daha düşüktü (p=0,0001; Şekil-33). Aynı şekilde, metformin ile tedavi edilen Grup 3'teki sıçanların glomerüler hasar puanları (ortanca 0,28 en düşük 0, en yüksek 1), adriamisin grubundaki sıçanların glomerüler hasar puanlarına (ortanca 1,72; en düşük 1, en yüksek 3) kıyasla istatistiksel olarak önemli ölçüde daha düşüktü (P=0,002; Şekil-33).



Şekil-33: Resveratrol ve metformin ile tedavi edilen sıçanların glomerül hasar skorları, tedavisiz gruba göre anlamlı olarak daha düşük bulundu (sırası ile p=0,0001 ve p=0,002).

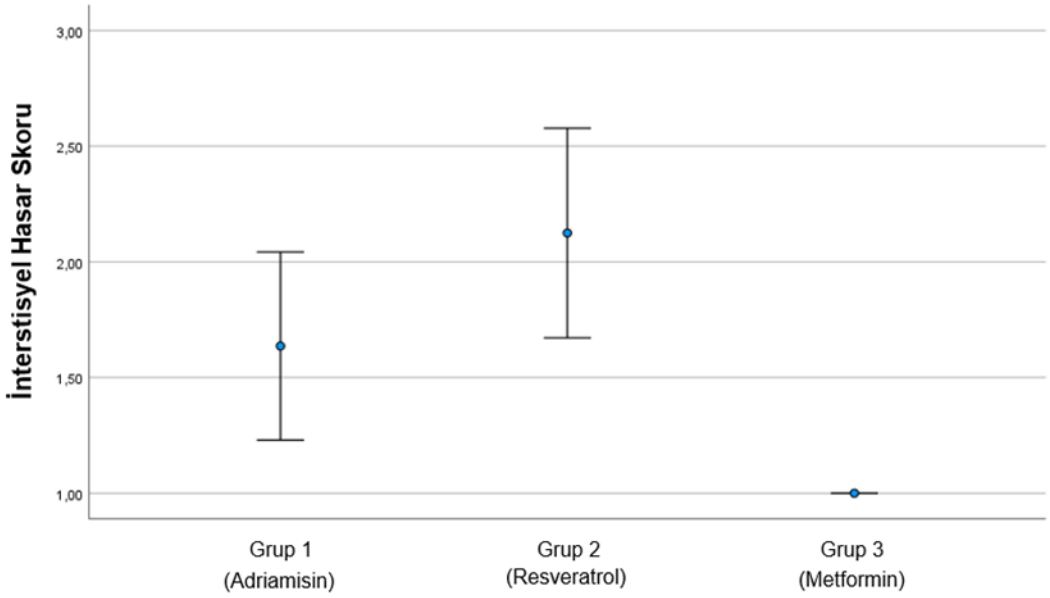
Deney gruplarında yer alan sıçanların tubulus hasar puanları arasında belirgin bir fark bulunmadı (Grup 1: 2,9, en düşük 2, en yüksek 3 / Grup 2: 2,6,

en düşük 2, en yüksek 3 / Grup 3: 3, en düşük 3, en yüksek 3 ve p=0,109) (Şekil-34).



Şekil-*34*: Resveratrol ve metformin tedavileri ile tübüler hasar skorunda bir iyileşme gözlenmedi (p>0,05).

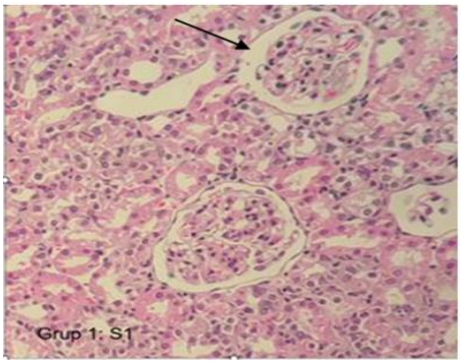
Grup 2'deki sıçanlar, resveratrol tedavisi gördüler ve interstisyum hasar skorları (2,1; en düşük 1, en yüksek 3) ile tedavi görmeyen Grup 1'deki sıçanların glomeruler hasar skorları (1,6; en düşük 1, en yüksek 3) arasında belirgin bir fark bulunmadı (p=0,133; Şekil-35). Ancak, Metformin tedavisi alan Grup 3'teki sıçanların interstisyum hasar skorları (1; en düşük 1, en yüksek 1), Grup 1'deki tedavi almayan sıçanların glomeruler hasar skorlarına (1,6; en düşük 1, en yüksek 3) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha düşük bulundu (p=0,04; Şekil-35). Ayrıca, Metformin tedavisi gören sıçanların interstisyum hasar skorları (1; en düşük 1, en yüksek 1), resveratrol tedavisi alan sıçanların skorlarına (2,1; en düşük 1, en yüksek 3) kıyasla daha fazla iyileşme gösterdi (p=0,001; Şekil-35).

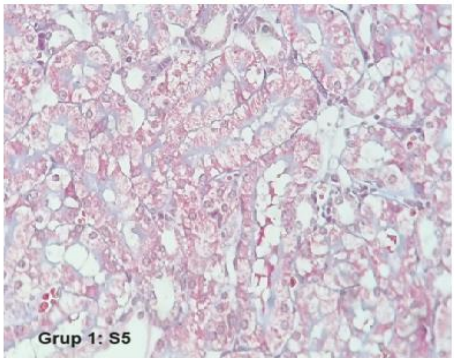


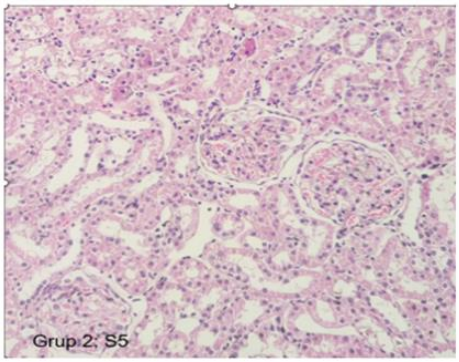
Şekil-35: Metformin tedavisi ile interstisyum hasar skorlarının, tedavisiz gruba göre (Grup 1) daha düşük olduğu saptandı. Grup 3 vs Grup 1 (p=0.04) ve Grup 3 vs Grup 2 (p=0,001).

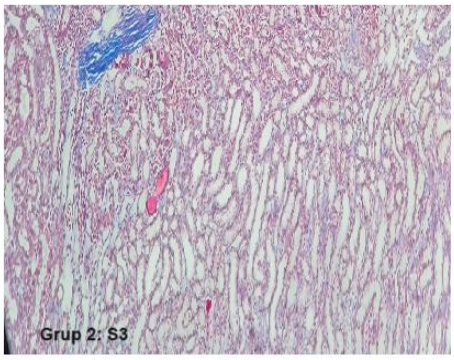
Böbrek kesitlerinde kontrol grubunda normal renal yapılar bulunmaktadır (Şekil-36). Adriamisin uygulanan birinci grupta, sıçanların böbreklerinde mezengial genişleme, iskemik kollaps, tubullarda su toplaması, bazal membranın kalınlaşması ve interstisyel inflamasyon belirlendi (Şekil-36).

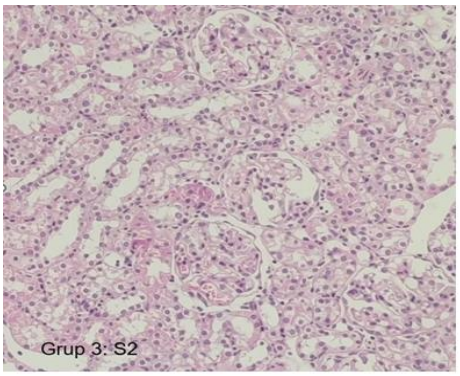
Resveratrol ve metformin uygulanan gruplarda, tubullarda su toplaması ve interstisyel ödem ve inflamasyon tespit edildi (Şekil-36). Ancak, bu gruplarda adriamisinin neden olduğu glomerüler iskemik kollapsın düzeldiği görüldü. Deney ve kontrol gruplarının patolojik kesitlerinde herhangi bir vasküler patolojiye rastlanmadı.

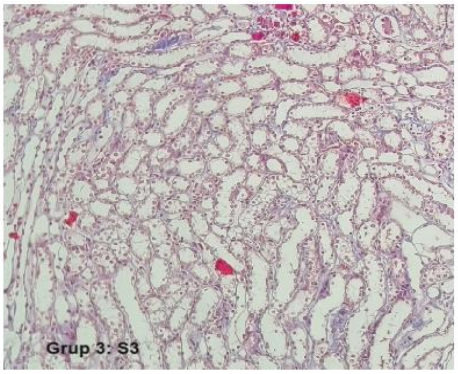

Grup 1: S1

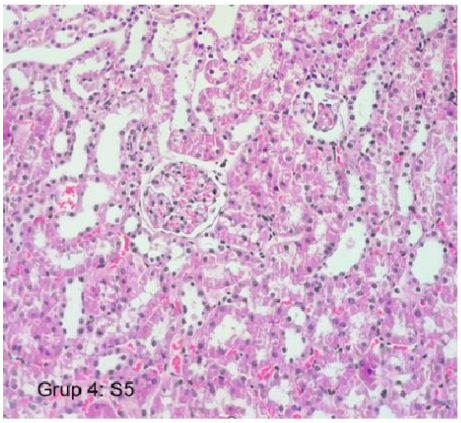

Grup 1: S5

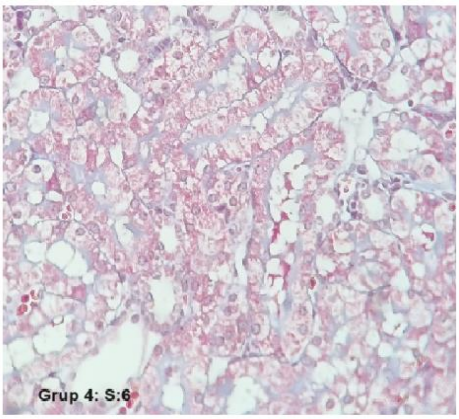

Grup 2: S5


Grup 2: S3


Grup 3: S2


Grup 3: S3


Grup 4: S5


Grup 4: S:6

Şekil-36: Grup 1 (adriamisin) için patolojik inceleme: Adriamisin uygulanan gruptaki preparatta, mezengial genişleme, tubullarda su toplaması, iskemik kollaps, interstisyel inflamasyon ve bazal membranın kalınlaşması belirlenmiştir. Ok işaretleri ile belirtilen bölgelerde glomerüler iskemik kollaps görülmektedir. Grup 2 (resveratrol Grubu) için patolojik inceleme: Resveratrol uygulanan gruptaki preparatta, interstisyel inflamasyon ve tubullarda hidropik dejenerasyon belirlenmiştir. Grup 3 (Metformin grubu) için patolojik inceleme. Preparatta, tubuluslarda hidropik dejenerasyon belirlendi ayrıca, interstisyumda ödem ve inflamasyon da gözlendi. Grup 4 (kontrol) için patolojik inceleme: Kontrol grubunun kesitlerinde normal böbrek histolojisi belirlenmiştir. Masson trikrom boyası ile boyanan grup 1, grup 2, grup 3 ve grup 4'te fibrozis saptanmadı.

Böbrek dokusunda resveratrol ve metformin tedavisi ile glomerüller, tübüller ve interstisyumdaki patolojik değişiklik (sağ sütunda periyodik asit Schiff boyamaları, sol sütunda hematoksilen ve eozin boyamaları). Grup 1'e ait preparatta mezangial genişleme, iskemik kollaps, tübüllerde hidropik dejenerasyon, bazal membran kalınlaşması ve interstisyumda inflamasyon gözlendi. Grup 2 ve 3'te tübüllerde hidropik dejenerasyon saptandı. Çalışma gruplarında herhangi bir vasküler patoloji ve fibrozis ve saptanmadı. Sıçanlarda sadece metformin tedavisi ile interstisyel inflamasyonun azaldığı görüldü.

TARTIŞMA

Nefrotik sendrom, proteinlerin idrara hasarlı glomerüller yoluyla geçmesi ile oluşan bir glomerulopatidir. Nefrotik sendrom gelişmesinden edinsel ve genetik glomerüler filtrasyon bariyer kusurları, T ve B hücrelerinde immun disregülasyonla ve permeabilite artırıcı faktörler sorumlu tutulmaktadır. Bütün bunlara ek olarak apoptozisin önemli bir podosit hasar mekanizması olduğu ileri sürülmektedir (369–372). Çalışmamızda adriamisin ile deneysel nefrotik sendrom oluşturarak sıçan böbrek dokusunda apoptotik ortak yolun son ögesi olan kaspaz-3 düzeylerini ölçtük. Deneyimizde Grup 1'deki böbrek doku kaspaz-3 düzeyleri kontrol grubu ile benzerdi. Anti apoptotoik Yes-associated-protein'in FSGS'deki rolünü inceleyen ve adriamisin ile ratlarda nefrotik sendrom oluşturulan bir çalışmada böbrek doku kaspaz 3'ün protein ekspresyonun artış saptanmıştır (373). Citral (3,7-dimethyl-2,6-octadienal), Epigallocatechin-3-gallate ve Osthole'ün, anti apoptotik etkilerinin incelendiği deneylerde de doku kaspaz 3 düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur (374–376). Bu çalışmaların aksine deneyimizde böbrek doku kaspaz-3 düzeylerinin kontrollerle aynı olmasının nedenleri şöyle özetlenebilir:

(i) Apoptozis adriamisin ile ile proteinüri oluşmasında kritik bir öneme sahip olmayabilir. Adiriamisn ile ilşkili proteinüri temel olarak endotelin-A reseptörü aktivasyonu tarafından indüklenen ve podositlerde beta-arrestin-1'in artmasına neden olan beta-katenin aktivitesine bağlıdır. Beta-katenin, P-kadherini podosit yarık diyaframındaki hücre iskeletine yerleştiren bir proteindir. Proteinüri ayrıca nefrin, podosin ve sinaptopodin ekspresyonunun azalmasıyla da ilişkilidir (100). Podositlerde apoptozisin dayanakları, kaspaz-3 ölçümlerine ve 'terminal deoxynucleotidyl transferase–mediated dUTP nick end-labeling' yöntemi (TUNEL) ile elde edilen bilgilere dayandırılmaktadır. Aslında apoptozun en güvenilir kanıtı elektron mikroskobu ile apoptotik cisimlerin saptanmasıdır (deneyimizde bu tür bir çalışma yapılmamıştır) (377). Ancak bugüne kadar in vivo hiçbir çalışmada podositlerde apoptotik cisimlerin varlığı gösterilememiştir (378). Glomerül bazal membranından ayrılan

podositlerin genellikle yaşadığı ve kültürlenebildiği belgelenmiştir (379). Bu bulgular apoptozun podosit dekolmanının önemli bir nedeni olmadığını göstermektedir. Anoikis, otofaji, nekroptozis veya mitotik katasrofi gibi diğer hücre ölümü türleri, in vivo podosit ölümünün daha olası nedenleri olabilirler (380). Üstelik adriamisin, bir diğer hücre ölüm modu olan piroptozu uyarabimektedir.

(ii) Adriamisinin böbrekler bir diğer patolojik etkisi oksidatif stres ve demir antrasiklin serbest radikallerinin oluşumu olabilir: böbrek GSH düzeylerinde azalma ve MDA düzeylerinde artışın histopatolojik değişimlerle paralel seyrettiği, renal COX-2 düzeylerinde artış olduğu ve bu durumun mezanjiyal hücreleri apoptoza karşı koruyabildiği gösterilmiştir (381–383).

(iii) Grup 1'deki sıçanlarda böbrek doku kaspaz-3 düzeylerinin kontrollerle benzer düşük ve/veya hafif aktive kaspaz-3'ün koruyucu etkilerinden kaynaklanabilir (384).

İç ve dış apoptozis yolunda kaspaz-3'ün aktivasyonu programlı hücre ölümünü başlatırken, hafif stresli hücrelerde düşük kaspaz aktivitesi seviyeleri, hücre ölümüne karşı koruma sağlayabilir. Bu hücrelerde, düşük kaspaz-3 aktivitesi, anti-apoptotik Akt kinazın aktivasyonu, mTOR veya NF-KB uyarısı ile hücrelerin hayatta kalmasını destekleyebilir. Aktive edilmiş Akt, proapoptotik molekülleri inaktive ederek kaspaz aktivitesinin daha fazla amplifikasyonunu da önler (384). Nefrotik sendromlu hastalarda apoptozu düzenleyen toksik olmayan spesifik ilaçlar bulunmamaktadır. Deneyimizde resveratrol ve metformin ile tedavi edilen sıçanlarda böbrek doku kaspaz-3 düzeylerinin, Grup 1 ve kontrol grubu ile benzer olduğunu bulduk. Bu verilerimiz resveratrol ve metforminin nefrotik sendromda renal doku kaspaz-3'ünün düzeylerini düşürmek yolu ile renoprotektif bir etki gösteremeyebileceğine işaret etmektedir. Resveratrolün apoptozis dışındaki etkiler yolu ile renoprotektif etkileri olduğunu gösteren sınırlı sayıda çalışmalar bu verilerimizi desteklemektedir. Sisplatin ve kadmiyum ile yapılan deneylerde resveratrolün renal tübüler hücrelerde kaspaz-3'ün protein ekspresyonu azalttığı gösterilmiş ise de, sıçan ve podosit hücre deneylerinde, resveratrolün koruyucu etkisinin oksidatif stresi bloke etmek ve adhezyon moleküllerini

artırıp, α-SMA protein seviyelerini azaltmak yolu ile oluştuğu gösterilmiştir (384, 385). Bir başka adriamisin ile oluşturulan nefrotik sendrom çalışmasında resveratrolün renoprotektif etkisinin inflamasyon ve anti-fibrozisi C3aR/C5aR-Sphingozin Kinaze 1 yolağı üzerenden engellediği bulunmuştur (386). ER protein sentezi, post-translasyon modifikasyon, protein katlama ve taşıması, oligomerizasyon, lipid anabolizması, kalsiyum depolanması ve düzenlenmesi ve sinyal iletiminin eas bölgesidir. ER stresi ile ER lümeninde katlanmamış ve yanlış katlanmış proteinlerin birikmesi ve kalsiyum homeostazisi ile lipid sentezinde dengesizlik oluşur. Ancak, katlanmamış protein tepkisi, ER ile ilişkili bozunma ve ER ile ilişkili otofaji veya ER-fagi dahil olmak üzere çeşitli koruyucu mekanizmalar, homeostazı yeniden sağlamak için ER stresi sırasında aktive edilirler (387). UPR yanıtı IRE1α, PERK ve ATF6 yolları dahil olmak üzere üç kanonik UPR sensörü tarafından başlatılır. Stres altında GRP78, ER'den ayrılması ile PERK ve ATF-6'yı aktive olur. Ancak üç sensör, ER protein yüküne bakılmaksızın lipotoksik stres altında etkinleştirilir (388). Artan kanıtlar, ER homeostazının düzensizliğinin böbrek iltihabı ve fibrozisini tetikleyerek böbrek hastalıklarının başlamasına ve ilerlemesine katkı sağladığını göstermektedir (389). Sunulan çalışmamızda deneysel nefrotik sendrom oluşturarak, böbrek IRE-1 ve ATF-6 düzeylerini ölçtük. Böbrek IRE-1 düzeylerinin metformin ve resveratrol tedavileri ile olan değişimlerini ve nefrotik sendromun biyokimyasal parametreleri ile olan ilişkilerini araştırdık. Deneyimizde Grup 1'deki sıçanlarda böbrek doku IRE-1 düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğunu ancak ATF-6 düzeylerinin tüm çalışma gruplarında benzer olduğunu bulduk. Çalışmamız adriamisin ile oluşturduğumuz nefrotik sendrom modelinin, olasılıkla bu deneyin yansıttığı klinik FSGS'de yanlış protein katlanma yanıtının (UPR) oluştuğunu ve bunun IRE-1 yolu ile meydana geldiğini göstermektedir. Adriamisinin indüklediği oluşan nefrotik sendromda UPR yanıtı ATF-6 sensörünün uyarısı ile meydana gelmemektedir. Genel olarak nefrotik sendrom ve tunikamisin veya iskemi-reperfüzyonun neden olduğu akut böbrek hasarının fare modellerinde podositlerde veya renal tübüler hücrelerde ER stresinin varlığı gösterilmiştir (390). Benzer şekilde monogenetik nefrotik sendrom hastalarında da ERS

bulunmaktadır (391). Örneğin Cybulsky ve arkadaşları, K256E α-aktinin-4 transgeninin podosit özgü ekspresyonunun, mutant proteinin ubikitinasyonu ve ubikitin-proteazom sisteminin bozulmasıyla ilişkili olan podosit ER stresini indüklediğini bulmuşlardır (392). Puromisin aminonükleozid podositotoksini ile yapılan deneysel bir nefrotik sendrom modelinde puromisin aminonükleozidin, esas olarak ATF6 ve kaspaz-12 yolları yoluyla podosit ER stresi indüklediği, bunun oksidatif stres yoluyla apoptozu uyardığı ve PI3-kinaz anti-apoptotik sinyalini inhibe ettiği saptanmıştır (393). Glomerüler epitel hücre hasarında endoplazmik retikulum katlanmamış protein yanıtının rolünün incelendiği bir deneysel çalışmada kompleman kaynaklı protein sentezinin azalmasının PERK'a bağımlı translasyon başlatma faktörü 2-alfanın fosforilasyonu yoluyla olduğu saptanmıştır (392). PERK-null farelerden elde edilen fibroblastlar, kompleman aracılı toksisiteye karşı artan bir duyarlılığa sahiptirler. Minimal değişiklik hastalığında biyopsilerde UPR aracı molekülü XBP1'in transkripsiyonunda artış olması bu hastalık sırasında da ERS bulunduğuna işaret etmektedir (394). XBP1'in artışı minimal değişiklik hastalığında IRE-1 yolağının aktif olduğunu desteklemektedir. Böbrek biyopsi incelemelerinde ise minimal değişiklik hastalığı, FSGS ve membranöz nefropati, proapoptotik protein CHOP'un artan ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir ki CHOP, Bcl-2'nin inhibisyonu yoluyla apoptozu indüklemektedir. Bu artış her üç yolağın (PERK, ATP-6 ve IRE-1) da minimal değişiklik hastalığı, FSGS ve membranöz nefropatide aktif olduğunu göstermektedir (395). Ancak CHOP'un ER olmayan stres yolları yoluyla da düzenlenebileceği unutmamak gerekir. Proliferatif glomerulonefritlerde ERS mekanizması açık değildir. Son zamanlarda proliferatif glomerulonefritlerde sitokinlerin, nitrik oksitin ve reaktif oksijen türlerinin üretiminin ERS stresini tetiklediği rapor edilmiştir. Aktivasyon, ATF6, IRE1 veya PERK'in yanı sıra protein kinaz Akt'yi, sitozolik kalsiyum konsantrasyonundaki değişiklikleri ve reaktif oksijen türlerinin oluşumunu içerebilmektedir. ER stresi erken aşamada NF-κB'yi aktive edebilir, daha kronik ER stresi potansiyel olarak NF-κB aktivasyonunu inhibe eder (396). İki taraflı renal arter klemplenmesi ile iskemi-reperfüzyonun oluşturulduğu bir fare modelinde IRE1/JNK yolunun, akut böbrek hasarının neden olduğu

inflamatuar sitokinleri düzenlediği, geç aşamalarda glomerüllerde renal ekstrasellular matriks üretimini aktive etmeye devam ettiği ileri sürülmüştür (233). Verilerimiz bir FSGS prototipi olan adriamisin ile indüklenmiş nefrotik sendromunda IRE-1 yolunun aktif olarak çalıştığını göstermektedir. IRE-1 yolunun aktive olmasının 4 temel sonucu vardır: ER protein katlanma kapasitesinde artış ve yanlış katlanmış proteinlerin ER'den sitozole geri translokasyonu, sitozolde ubiquitinasyonları ve 26S proteozomları tarafından parçalanması; mRNA ve miRNA bozulmasına neden olarak ER lümenine geçen protein miktarında azalmaya; TRAF-2 aracılı apotozis (kaspaz-3 aktivasyonu) ve JAK aracılı otofaji ve BcL2 inaktivasyonu/Bax aktivasyonu; ve NF-κB aktivasyonu ile inflamasyon. Ayrıca IRE-1 kaspaz-12'yi doğrudan aktive eder. Deneyimizde IRE-1 artışının yanısıra, Grup 1,2 ve 3' teki sıçanlarda kontrol grubuna göre kaspaz 12 düzeylerinin de arttığını bulduk. Üstelik IRE-1 ve kaspaz-12 arasında pozitif yönde bir korelasyon vardı. Bulgumuz adriamisin ile indüklenmiş nefrotik sendromda (ve olasılıkla klinik FSGS'de) IRE-1'in kaspaz-12'yi aktive ettiğini göstermektedir. Ancak kaspaz-12 akvisayonu, kaspaz yolağının son basamağındaki kaspaz-3 aktivasyonu ile sonuçlanmamaktadır. Deneyimizde tüm çalışma gruplarında böbrek doku kaspaz-3 düzeyleri benzerdi. ER stresinin aracılık ettiği apoptoz için Bax, hücre içi kalsiyum akışı ve kaspaz-12 uyarılarının hepsinde (aktivasyonunda) mitokondriden sitokrom-c salınır ve apoptozom oluşumu meydana gelir. Sonuçta tüm bu uyarılar kaspazların aktivasyonu ile sonuçlanmaktadır. Böylece denebilir ki hangi uyarı yolu ile olursa olsun adiramisin ile oluşturulan nefrotik sendromda apoptosis olmayabilir. Çalışmamızda zaten ATF-6 tüm gruplarda benzerdi. Sonuç olarak, apoptozis elediğimizde, AINS'de ERS uyarısı ER protein katlanma kapasitesinde artış, yanlış katlanmış proteinlerin proteozomlar tarafından parçalanmasında artış, ER lümenine geçen protein miktarında azalma ve NF-κB aktivasyonu sonucu inflamasyon ile sonuçlanıyor gibi görünmektedir. ERS ilişkili kaspaz aktivasyon aşaması henüz net olarak tanımlanmadığı dikkate alındığında, deneyimiz adiramisin ile oluşturulan nefrotik sendromda IRE-1-kapaz-12-kaspaz-3 bağlantısını ile ilgili yeni veriler sağlamaktadır. Öte yandan Kaspaz-12 yalnızca kemirgenlerde eksprese edilir

çünkü insan homologu, evrim sırasında çeşitli mutasyonlar nedeniyle susturulmuştur. Henüz netlik kazanmasa da kaspaz-4'ün, memelilerde kaspaz-12'nin işlevini yerine getirebileceği düşünülmektedir (397). Yani kaspaz-12 için henüz kesin bir substrat veya insan ortologu tanımlanmadığı için ER stresinin neden olduğu apoptozda bu kaspaz-12'nin ortak başlatıcı olmasını zorlaştırmaktadır. Bu durumda insanlarda kaspaz-4 kaspaz-12 olarak ele alınsa bile, kaspaz-4'ün kaspaz-8'i ve sonra da kaspaz-3 yolunu uyarması beklenir. Ya da kaspaz-8'in aktive olması ya Bax uyarısı ile veya Bap31 molekülünü aktive etmesi ile ER'den mitokondriye kalsiyum girişi yolu ile mitokondrilerden sitokrom c salınmasına ve yine son ortak yol olan kaspaz-3'ün artışına neden olması gerekmektedir. Başka olası bir mekanizmanın da kaspaz-3 artışı ile sonuçlanması olasıdır: mitokondride prokaspaz-8-Bap31-UPR ile indüklenen CDIP1 komplexi kaspaz-8'in aktivasyonuna, daha sonrada bu aktivasyon ile Bax ile sitokrom c salınımı, kaspaz-3 artışı ve sonuçta apoptozis gerçekleşir (398). Böylece tüm bu olası mekanizmalar için olsa bile, deneyimiz AINS'de IRE-1 ve ve ATF-6 (ve bu deneyde çalışılmamış olan PERK yolu) uyarısı ile kaspaz-3 artışı olmadığını ve apoptozis gelişmediğini düşündürmektedir.

ATF6, 90 kD ER membran proteini, ER'den Golgi'ye geçer ve burada S1P, S2P proteazları tarafından parçalanır, aktif bir transkripsiyon faktörü halini alarak (p50 ATF6) çekirdeğe girer ve UPR genlerinin ekspresyonunu düzenler. Çalışmamızda tüm deney gruplarında ATF-6'nın böbrek doku düzeylerinin benzer olduğunu ve resveratrol yada metformin tedavileri ile bu düzeylerin değişmediğini saptadık. Literatürde ATF6'nın böbrek hastalıklarındaki rolü ile ilgili çok az sayıda çalışma mevcuttur. Jao ve arkadaşları, p50 ATF6α'nın aşırı ekspresyonunun, lipid metabolizmasının ana düzenleyicisi olan peroksisom proliferatör aktiveli reseptör-α ekspresyonunu azalttığını, yağ asidinin β-oksidasyonunu baskıladığını ve böylece insan HK-2 proksimal tübüler hücre hattında aşırı lipid damlacıkları oluşumuna buna bağlı olarakta mitokondriyal işlev bozukluğuna, apoptoza ve renal pro-fibrotik genlerin ekspresyonunda artma saptanmıştır (399). Hem hücre kültürü hemde sıçan deneylerinde lipotoksite ile ilişkili olarak ATF6α'nın nifedipinden

etkilenen tek ER Stres yolağı olduğunu ve aynı zamanda CHOP ve kaspaz 3-7 ve 12 düzeylerinde artışlar saptanmıştır. Yazarlar hipertansiyonu olan KBH hastalarına nifedipin tedavisinin uygulanmaması gerektiğini ileri sürmüşlerdir (400). PERK ve IRE-1 iki yoldan ziyade ATF6 yolunun, oksidasyon protein ürünlerinin indüklediği insan proksimal tübüler hücre hipertrofisine ve epitelyal-mezenkimal geçişe aracılık ettiği saptanmıştır (401). Sunulan çalışmamızda ATF-6 düzeyleri ile serum albümin, total protein, kolesterol, glomerular, tubular ve intersitisyel hasar skorları arasında herhangi bir korelasyon saptamadık. Regresyon analizinde de ATF-6'nın herhangi bir ölçüme veya hasar skorlamasına istatisriksel olarak anlamlı ölçüde etkili olmadığını bulduk. Sonuç olarak AINS'de hiperlipidemi nedeni ile lipotoksisite ile birlikte UPR olmasına rağmen, ATF-6 yolağı kullanmamaktadır ve bu yolak aracılığı ile ERS'nin etkilerini azaltıyor gibi görünmemektedir.

Literatür bilgilerimiz ışığında, metforminin adriamisin ile oluşturulan nefrotik sendrom modelindeki etkisi ile ilgili yayınlanmış sınırlı sayıda makale bulunmaktadır. Birçok makalede metforminin renoprotektif etkileri genellikle diyabet ile ilişkili olamak üzere, anormal otofajiyi, endoplasmik retikulum stres ve lipotoksisite düzeltmesine bağlanmıştır (340). Metforminin sıçanlarda adriamisin kaynaklı nefrotoksisiteye karşı koruyucu etkisinin araştırıldığı bir çalışmada metformin ile tedavi edilen sıçanlarda tedavi edilmeyenlere göre serum TNF-a, böbrek MDA düzeyleri ve kaspaz-3 immün ekspresyonunda azalma saptanmıştır (402). Lahoti ve arkadaşları adriamisin uygulanan sıçanlarda pro-apoptotik APAF-1, Kaspaz-3, Bax ve Bad proteinlerinin ekpresyonunda artış olduğunu rapor etmişlerdir (403). Ratlarda oluşturulan bir diabetik nefropati modelinde hipergliseminin kaspaz-3'ü artırdığı bulunmuştur (367). Albümin ile oluşturulmuş renal tübüler hasar modelinde, metforminin tübüler hücrelerde kaspaz-3'ü azalttığı saptanmıştır (404). Çalışmamız da ise renal doku kaspaz-3 düzeyleri metformin tedavisi ile herhangi bir değişim göstermemiştir. Bu durumun nedenleri adriamisin ile oluşturulan nefrotik sendrom patogenezinde yukarıda anlatıldığı gibi apoptozisin ana faktör olmaması; metformininin anti-apoptotik etkiden çok, santral podosit proteinlerinin ekspresyonunu iyileştirmesi, aktin hücre iskeletinin dinamiklerini

düzenlemesi, otofajiyi aktive etmesi, TGF-β'nın renal ekspresyonunun azaltması ile fibrozisin ve makrofaj migrasyon inhibitör faktör aracılı podosit inflamasyonunu azaltması olabilir (405). Metforminin UPR yolundaki temel molekülleri nasıl inhibe ettiği bilinmemektedir (340). Dahası metforminin ER stresi üzerindeki etkisi doza, müdahale biçimine ve yaralanma şiddetine bağlı olabilir ve adaptif UPR'nin metformin tarafından zamansız inhibisyonu sitotoksik etkileri tetikleyebilir (406). Çalışmamızda metforminin IRE-1 düzeylerini azaltması, IRE-1 düzeyleri ile serum albümin arasındaki negatif; intersitisyel hasar skoru ile olan pozitif korelasyonların varlığı, metforminin renoprotetktif etkisinin endoplazmik retikulum stresini IRE-1 yolağını kullanarak azaltmak yolu ile meydana gelebileceğine işaret etmektedir. Metformin koroner arter endotel hücrelerinde hem tunikamisin veya hiperglisemik durumların neden olduğu ER stresini azalttığı ve bunu IRE1a ve PERK fosforilasyonunun yanı sıra ATF6 ve GRP78 ekspresyonunu baskılamak yolu ile gerçekleştirdiği rapor edilmiştir (407). Patofizyolojik açıdan, böbrek doku IRE-1 düzeylerinin azaltılması tübüler epitel hücrede ER stres kaynaklı epitel-mezenkimal geçişin ve inflamatuar yanıtların da azalmasını sağlayarak fibrotik yeniden şekillenmeyi iyileştirdiği öne sürülmüştür (408). Çünkü uzun süreli ER stresi NLRP3 inflamazomunun aktivasyonu sağlayarak çeşitli inflamatuar yanıtları (NF-κB ve MAPK-JNK indüksiyonu, interferon-β, IL-23, IL-1β ve IL-18 sitokinlerin salınımı) indükleyebilir (409). ER stresi, albuminüri kaynaklı inflamazom aktivasyonunda da önemli bir rol oynuyor gibi görünmektedir (410). Çalışmamızda gösterdiğimiz metformin ile IRE-1 azalmasının ve bu azalma ile ilişkili korelasyonlarımız bu görüşü desteklemektedir. Öte yandan IRE-1 inhibisyonunun iskemik akut böbrek hasarında ferroptozu azaltarak akut böbrek hasarında renal tübüler epitel hücrelerinde ferroptozu hafifletmek yolu ile de renoprotektif etkiler gösterebilmektedir (411). Metforminin IRE-1'i azaltmasının oluşturduğu renoprotektif etkiler ek olarak ferroptozu azaltmış olması ile de ilgili olabilir. Bir bütün olarak ele aldığımızda, sonuçlarımız IRE-1'i hedeflemenin, nefrotik sendrom için potansiyel bir terapötik yaklaşım olabileceğini düşündürmektedir.

Resveratrol (3,4′,5-trihidroksi-trans-stilben), çeşitli meyvelerde, özellikle kırmızı üzümde bulunan çok yönlü bir fenolik bileşiktir. Resveratrol, antioksidan, antiinflamatuar, antidiyabetik, antikanser, kemopreventif, renal lipotoksisite önleyici ve renal koruyucu etkiler dahil olmak üzere bir çok etkinliğe sahiptir (412, 413). Bu etkilere ilave olarak ER stres modülasyonunda da önemli rolü olduğu olduğu ileri sürülmüştür. Bir çalışmada resveratrol, tunikamisin ile tedavi edilen HT22 hücrelerinde artan apoptozu önemli ölçüde azalttı. Bunun sonucunda GRP78, XBP1 ve apoptotik belirteçlerde (CHOP ve kaspaz-12) azalma ve otofaji belirteçlerinde (LC3II ve beclin-1) artış ve antioksidan enzimlerin aktivitesinde (CAT ve SOD) artış olduğunu göstermiştir (412, 414). Çalışmamızda resveratrolün ATF-6 düzeylerini azaltmada etkili olmadığını saptadık. Resveratrol ile tedavi edilen sıçanlarda IRE-1 düzeyleri kontrol grubuna göre yüksekti ve bu tedavi ile IRE-1 düzeylerinde tedavi edilmemiş sıçanlara göre istatistiksel anlamlı olmayan bir azalmaya yol açtığını bulduk (490,25 vs 438,41 ng/ml). Grup 1,2 ve 3'teki sıçanlarda kaspaz-12 düzeyleri kontrole göre yüksekti ve resveratrol tedavisinden etkilenmemişti. Resveratrolün ER stresi hangi mekanizma ile azalttığı kesin olarak bilinmemektedir. Diyabetik nefropati patogenezi açısından hipergliseminin PERK-eIF2a-ATF4-CHOP'un ekspresyonu artıran yolağını kullanarak podositlerde UPR ve ER stresini indüklediği gösterilmiştir (415). Bu bağlamda resveratrol, diyabetik sıçanların böbreğinde PERK yolağının ERS belirteçleri olan GRP78, p-PERK, ATF4 ve CHOP'un artışını önlemiştir (325). Ayrıca resveratrol hem in vivo hem de in vitro olarak ER stresini etkileyerek Akt/NF-κB yolunun aktivasyonunu da suprese edebilmektedir. Zhang ve arkadaşları resveratrolün fare böbreğinde CHOP ve kaspaz-12 inhibisyonu yaptığını rapor etmişlerdir (326). Resveratrol akut böbrek hasarı olan pediatrik sıçanlarda böbrekte IRE-1 ve NF-κB'nin fosforilasyonunun inhibisyonu ile endoplazmik retikulumdaki stresi ve inflamasyonu iyileştirmiştir (416). Benzer şekilde resveratrol, akut böbrek hasarı olan septik sıçanların ölüm oranını önemli ölçüde azalttığı ve bunu IRE-1- NF-κB inhibisyonu yolu endoplazmik retikulum stresini iyileştirerek yaptığı bidirlmiştir (234). Tek taraflı üreter tıkanıklığı ile oluşturulan bir deneyde resveratrol tedavisi renal tübüler hasar, renal

interstisyel kollajen, eIF2a ve ATF4 protein ekspresyonu önemli ölçüde azaltmıştır (417). Bu bulgular resveratrolün PERK yolağını inhibe ettiğini desteklemektedir. Spesifik resveratrol ayrıca, sessiz bilgi düzenleyici faktör 2 ile ilişkili enzim 1 (SIRT1) expresyonunu artırarak PERK yolunu inhibe edebilir, şaperonların üretimini ve ERAD'ı uyarabilir (418). Sonuç olarak bulgularımız resveratrolün nefrotik sendromda istatistiksel olarak anlamlı derecede ATF-6 veya IRE-1 düzeylerini azaltarak ER stresi azaltmadığı desteklemektedir. Deneyimizde PERK yolu ölçülmediği için bu yol ile resveratrolün ER stresinde yapabileceği olası bir azalma söz konusu olabilir. Ancak bu yol aktive olsa bile resveratrolün kaspaz-3 ve 12 düzeylerine etkili olamaması ER stersini azaltma etkisinin CHOP artışını engellemesi sonucu gerçekleşmesini muhtemel kılmaktadır. Bu yolakta ana etkiler (ERO-1-IPR-3 ile mitokondriye kalsiyum girişi ve kaspaz-9 sonrada kaspaz-3 aktivasyonu, Bcl2 azlaması-Bax artışı-sitokrom-c salınması ve kaspaz-9 sonrada kaspaz-3 aktivasyonu, DR-5-FADD-kaspaz-8 ile kaspaz-3 aktivasyonu) kaspazlar üzerinden gerçekleşir. Bu nedenle deneyimiz resveratrol ile PERK-CHOP-kaspaz aktivasyonunun olmayabileceğini desteklemektedir. Bu yolakta resveratrol CHOP-TRB3 (Akt fosforilasyonunu önle); CHOP-ATF-5-NOXA veya GADD34-ATF-4-eIF-2alfa-ROS alt yolağı ile apoptozisin direkt önlenmesinden ziyade 'kolaylaşması' mümkün olabilir. Nefrotik sendromda resveratrolün ER stresine olan etkilerini anlamaya yönelik daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

FSGS, proteinürik böbrek hastalıklarında en sonunda son evre böbrek hastalığına yol açabilen ana histopatolojik bulgulardan biridir. İmmünolojik ve sistemik süreçler ve genetik varyasyonlar dahil olmak üzere birden fazla neden podosit hasarına veya kaybına neden olabilir. Son zamanlarda, nukloporin kompleksinin ve ilgili mekik mekanizmasının belirli genlerindeki mutasyonlar, FSGS'nin histopatolojik bulgularını içeren bir hastalık kompleksi olan steroid dirençli nefrotik sendroma (SRNS) ve glomerulosklerozа neden olan genler listesine eklenmiştir (160). Nükleer gözenek genleri NUP93, NUP205 ve XPO5'teki mutasyonlar steroid dirençli nefrotik sendroma neden olur (419). Nükleoporinler, nükleer gözenek kompleksleri oluşturan yüksek oranda korunmuş ökaryotik proteinlerdir. NUP93 mutasyonu olan bir hastada NUP93

immünofloresansının yoğunluğu hem glomerüler hem de glomerüler dışı hücrelerin çekirdeklerinde önemli ölçüde azaldığı fakat CD2 ilişkili protein ve nefrin ekspresyonunun önemli ölçüde korunduğu gözlenmiştir (420). Kollaps yapan FSGS tanımlanmış iki kardeşte etiyolojik olarak NUP-93 mutasyonları saptanmış ve saptanan mutasyonların NUP93'ün nükleoporin ile ilgili temel moleküllere asetil-koenzim A karboksilaz (nükleer gözenek-zar arayüzünün uzun zincirli yağ asidi bileşiminin düzenleyicisi) ve apoptotik proteaz aktive edici faktör 1 (apoptoz sinyallemesinde ve DNA hasarı tepkisinde rol oynar) bağlanmasının bozulmasına neden olduğu ileri sürülmüştür (421). Klinik olarak NUP93, NUP107 ve NUP160'taki bialelik varyantların, hızla son dönem böbrek hastalığına ilerleyen ciddi erken başlangıçlı SRNS'ye neden olabileceğini gözlenmektedir (422). NUP160 olmayan farelerde podositlerin bozulduğu yani hücre proliferasyonunun inhibe edildiği, apoptoz, otofaji ve hücre göçünün indüklediği rapor edilmiştir (423). NUP205'in genetik mutasyonlarında podositlerde hücre farklılaşması, çoğalması ve apoptoz gibi birçok hücresel sürecin önemli düzenleyicileri olan Yes ilişkili protein ve WW alanı içeren transkripsiyon düzenleyici 1'in nükleer translokasyonu bozulmaktadır. Yes ilişkili protein ve WW alanı içeren transkripsiyon düzenleyici 1 sitoplazmada sıkışır ve bunun sonucunda oluşan nükleer transkripsiyonel aktivite azalma podosit homeostazının bozulması ve dolayısıyla podosit hasarına ve nihayet FSGS'ye neden olmaktadır (424). Çalışmamızda adriamisin ile oluşturulmuş nefrotik sendrom modelinde böbrek NUP-93 ve 107 ile ER stres, resveratrol ve metformin tedavisi ve böbrek patolojisi arasındaki arasındaki bağlantıyı inceledik. Grup 1 deki sıçanlarda NUP-93 düzeyi kontrollere göre artmış, bu artış metformin tedavisi ile kontrol grubu düzeyleri ile benzer hale gelmişti. Resveratrol ile tedavi edilen sıçanlarda ise NUP-93 düzeyleri Grup 1'e göre istatistiksel olmayan bir artış gösteriyordu. Literatür bilgilerimize göre, çalışmamız nefrotik sendromda NUP-93 düzeylerini gösteren ilk verileri sunmaktadır. Sonuçlarımız, NUP-107 artışı da dikkate alındığında, nefrotik sendrom sırasında NUP-93 mutasyonlarının aksine nukleoprin sayısında sayısında artış olduğunu desteklemektedir. NUP-93 mutasyonları nukleoprinlerin hipofonksiyone olması ile sonuçlanmaktadır. NUP93'ün kaybı

aynı zamanda kusurlu podosit göçüne, bozulmuş podosit çoğalmasına ve oksidatif strese karşı duyarlılığın artmasına neden olmaktadır. NUP-93 mutasyonları ile olan nefrotik sendromun patogenezinin anormal TGF-ß/SMAD sinyallemesi ile ilişkli olduğu düşünülmektedir. NUP93 mutasyonları SMAD aktivitesini ortadan kaldırmakta ve inhibitör etkisi olan BMP7'ye bağımlı SMAD sinyalini bozmaktadır. NUP93 mutasyonları SMAD4 ile importin 7 arasındaki protein-protein etkileşimini de ortadan kaldırır ve potansiyel olarak nükleositoplazmik trafiği bozabilir (160). NUP-93 mutasyonları ayrıca filopodia oluşumunu düzenleyen küçük bir GTPaz olan Cdc42 eksikliğine yol açarak SRNS patogenezine katkıda bulunur. Böbrek hastalıklarında NUP-93 artışı ve sonuçları ile ilgili literatürde herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. NUP 160 ile ilgili yapılan bir deneysel çalışmada diaybetik nefropati oluşturulmuş farelerde NUP160 ekspresyonunun ve inflamatuar yanıtın arttığı, otofajinin ise inhibe edildiği bildirilmiştir. NUP160'ın azaltılması, yüksek glikoz ile tedavi edilen NRK-52E hücrelerinde ve streptozotosin ile indüklenen diyabetik nefropatili farelerde p62 ve Kolajen IV ekspresyonunu azaldığı, LC3II/LC3I oranını artırarak ve nükleer faktör (NF)-κB sinyallemesini inaktive ederek otofajiyi geri kazandırdığı ve inflamasyon ve fibrozisin inhibe edildiği saptanmıştır. Yazarlar NUP160 baskılanması ile diyabetik nefropatili farelerde patolojik hasar ve glikoz toleransında da iyileşme gözlemişleridir (425). Çalışmamızdaki NUP-93 ve 107 artışının muhtemel nedeni ER stresi gibi görünmektedir. Çünkü nefrotik sendrom sayesinde oluşan ER stresi belirteçlerinden IRE-1 ile NUP-93 ve NUP-17 arasında pozitif yönde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı. Çalışmamız nefrotik sendromda ER stresi gerçekleştiğinde nukleus-sitoplazma makromolekül taşınmasını artıran nükleer por sayısının artmış olabileceğine işaret etmektedir. Özellikle anormal derecede aşırı eksprese edilen NUP93 ve muhtemlen NUP-107'nin artışı sinyal iletim yollarının çoğunluğu tarafından paylaşılan nihai nükleer taşıma adımını aktive ederek birkaç büyüme faktörü sinyalini aynı anda güçlendirmektedir (159). Bu, β-katenin, ERK, SMAD ve STAT gibi transkripsiyon ortak aktivatörlerinin nükleer translokasyonunu gerektirir. TGF-β1/Smad3 sinyallemesinin hiperaktivasyonu renal tübüler epitel hücre

apoptozu, inflamasyon, miyofibroblast aktivasyonu, hücresel yaşlanma ve otofaji, nekroptozis ve ferroptozis yolu ile tübüler fonksiyon bozukluğuna, interstisyel fibroblast çoğalmasına, inflamasyona ve artmış ekstraselüler matriks birikimine neden olmaktadır (426). Gerçekten de NUP-93 ve TGF-β1/Smad3 sinyallemesi arasındaki ilişki gögüs kanseri hücre deneylerinde iyi belgelenmiştir : NUP93, Importin7'ye bağlanır, NUP-93 yokluğu SMAD ve ERK'nin nükleer translokasyonunu engellerken ve aşırı ekspresyonu ise bu proteinlerin translokasyonları artırır. Aşırı artan NUP-93 ve muhtemelen NUP107 nedeni ile sayıları artan nükleoprin sayesinde göğüs kanseri hücrelerinde olduğu gibi nefrotik sendromda da büyüme faktörü uyarısı ile anılan birçok transkripsiyon faktörünün nukleusa geçişi artıyor gibi görünmektedir. NUP-93 mutasyonlarında gösterilen NUP-93-TGF/SMAD bağlantısı göz önüne alındığında, çalışmamızda gösterdiğimiz böbrek dokusundaki aşırı artan NUP-93 ve nukleoporin sayısı nefrotik sendrom, olasılıkla FSGS patogenezinde rol oynuyor gibi görünmektedir. Deneyimiz ile NUP-93 ve NUP-107 artışlarını nefrotik sendrom için yeni bir hastalık mekanizması olarak tanımlıyoruz. Patogenez açısından ikinci bir başka olasılık NUP-93- hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz (ERK) bağlantısı olabilir. NUP-93'ün yokluğu ERK nükleer translokasyonunu engellemekte ve aşırı ekspresyonu ise artırmaktadır (159). ERK yolu, çeşitli büyüme faktörleri tarafından uyarılabilir ve aktivasyonu proliferasyon, farklılaşma, apoptoz ve hipertrofi ile sonuçlanır. Ek olarak, ERK pro-fibrotik bir faktör olarak renal fibrozis oluşumuna da katılmaktadır (427). Çalışmamızda artışını gösterdiğimiz böbrek doku NUP-93 artışı ERK yolağının aktive olması ile nefrotik sendrom patogenezine katılıyor olabilir. Özet olarak çalışmamız artan NUP-93 düzeylerinin TGF-β/SMAD ve EGF/ERK vb yolaklar ile nefrotik sendrom patogenezinde rolü olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda gösterdiğimiz NUP-93 ve NUP-107 ile serum albümin arasındaki negatif korelasyonlar NUP-93'ü hedefleyen (azaltılmasına yönelik tedavi yaklaşımlarının) tedavilerin nefrotik sendrom için yararlı olabileceğini göstermektedir. Deneyimizde metformin tedavisi ile NUP-93 düzeylerinde etkin bir azalma sağlanırken, NUP-107 bu tedaviden etkilenmemiştir.

Verilerimize göre, metforminin gerek anti-NUP-93 etkisi, gerekse de daha önce literatürde gösterilen böbrek dokularındaki anti- TGFβ1/SMAD etkisi ile birlikte (folik asitle indüklenen ve tek taraflı üreter obstrüksiyonu ile oluşturulan böbrek fibrozu fare modelleri) nefrotik sendromda destekleyici bir alternatif tedavi olasılığını yansıtıyor olabilir (428).

Nükleer kor kompleksinin önemli bileşeni olan NUP-107 sitoplazmaya mRNA aktarımı için gereklidir. Nup107 kompleksi ayrıca mitotik süreçte kinetokorlarda mikrotübül polimerizasyonunu düzenler. NUP107, DNA hasarının neden olduğu genotoksik stres sırasında hücre döngüsünün durdurulması üzerinde de önemli bir etki gösterir, apoptozu indükler ve büyüme faktörü sinyali yoluyla yaşlanan hücrelerin kaderini düzenler (429). İşlevsel olarak, neonatal sıçan ventrikül miyositlerinde Nup107'nin aşırı ekspresyonunun, Scn5a ile kodlanmış Na kanalının akımlarını önemli ölçüde arttırdığı saptanmıştır (430). Anılan çalışmada ayrıca hipoksi ve iskemik saldırılara maruz kalan kardiyomisitlerde ve kalp dokularında Nup107 ve Na kanalı (Nav1.5) protein ekspresyonu arasındaki yakın bir ilişki de gösterilmiştir. Nup107'nin mutasyonları sıklıkla gelişimsel anormalliğe (zebra balığı embriyolarında faringeal iskeletin kaybolmasına, yüzme mesanesinin yokluğuna ve daha küçük gözler) neden olur (431). Bialelik NUP107 mutasyonları mikrosefali ve steroide dirençli nefrotik sendroma yol açar (170). NUP-107 ile oluşan mutasyonlar ve nefrotik sendrom arasındaki ilişki açık olmamakla birlikte Braun ve arkadaşları (161) NUP85, NUP107 ve NUP133 genlerinin nakavt edilmesiyle podositlerde aktin hücre iskeletinin düzenleyicisi olan Rho benzeri küçük GTPaz Cdc42'nin ekspresyonunun arttığını bulmuşlardır. Öte yandan NUP107, NUP85 ve NUP133 mutasyonları, NUP içindeki protein-protein etkileşimlerini zayıflatmaktadır (161). Çalışmamızda tüm deney gruplarındaki sıçanlarda böbrek dokusu NUP-107 düzeyleri benzer ancak kontrole göre yüksek olarak ölçüldü. Metformin ve resveratrol tedavileri Grup 2 ve 3'teki NUP-107 düzeylerinde değişikliğe yol açmadı. Deneyimiz sonucuna göre artan NUP-107 düzeyleri de çekirdeğe geçişi sağlayan NUP sayısında artışı yansıtmaktadır. NUP-107 ile IRE-1 ve kaspaz-12 arasınadaki pozitif korelasyonlar olayın temel nedeninin ER stres olabileceğini

desteklemektedir. Öte yandan NUP-17 ile serum albümin arasında saptadığımız negatif yöndeki korelasyon ve glomerular, tubular ve intersitisyel hasar skorları arasındaki pozitif korelasyonlar NUP-107'nin nefrotik sendrom patogenezinde rolü olabileceğine işaret etmektedir. Bu patogenezle ilişkili NUP-107 ekspresyonundaki artışın etkilediği süreçler veya nükleer tranlokasyonunu arttırdığı proteinler henüz belirlenememiştir. NUP-107 artışı ve adriamisin ile oluşturulan nefrotik sendrom ilişkisini açıklayabilecek aday proteinlerden ikisi apoptotik proteaz aktive edici faktör 1 (Apaf-1) ve hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz (ERK) olabilir. Jagot-Lacoussiere ve arkadaşları DNA hasarı kaynaklı Apaf-1 nükleer translokasyonuna nükleoporin Nup107'nin aracılık ettiğini bulmuşlardır (432). Adriamisin ile oluşturulan nefrotik sendromda gösterdiğimiz NUP-107 artışı Apaf-1'in çekirdeğe taşınmasını kolaylaştırmış olabilir. Adriamisin topoizomeraz II inhibisyonu, DNA interkalasyonu ve kromatin hasarı yolu ile genomik stres ve/ya hasar oluşturabilir. Apaf-1, adriamisinin oluşturduğu genotoksik stresle (DNA hasarı kaynaklı) indüklenen hücre döngüsü durmasında rol oynayabilir (433). Genomik stress NUP-107 ekpresyonunun artışına ve Afap-1'in nükleer tranlokasyona ve hücre döngüsünün S fazında durmasına yol açıyor olabilir. Ek olarak, genomic stres aynı zamanda Rad3 ile İlgili Protein (ATR) ve Kontrol Noktası Kinazları (Chk)/p53/ apoptoz düzenleyicileri PUMA ve NOXA yolu ile kaspaz-3'ü aktive ederek hücrelerde apoptozise de yol açabilmektedir. Ancak çalışmamız ölçtüğümüz kaspaz-3 düzeylerinin normal olması nedeni ile bu olasığı desteklememektedir. Öte yandan Adriamisin mitokondride direkt olarak veya elektron taşıma zincirini inhibe ederek ROS üretiminin artmasına neden olabilir. Bu durumda üretilen ROS ER stresine yol açabilir. Çalışmamızda ER stres artarken (RE-1 artışı) NUP-107 düzeylerinde de artış saptadık.

NUP-107 ile ilişkili yapılan bir çalışmada genç insan diploid fibroblastlarında Nup107'nin spesifik siRNA tarafından inhibisyonu, epidermal büyüme faktörü uyarımını takiben fosforile edilmiş hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazın etkili nükleer translokasyonunu önlemiştir (434). Bu durum tersine olarak, NUP-107 artışı ile ERK nükleer translokasyonun da artabileceğini düşündürmektedir ve NUP-107 artışının yarattığı olumsuz

sonuçlar için uygun bir açıklama gibi görünmektedir. ERK aktivasyonu ile sitolazmada apoptozis, otofaji, inflamasyon ve oksidatif stres; çekirdekte ise hücre proliferasyonu, hücre döngüsü, büyümesi ve farklılaşması modüle edilebilir (435). Dahası, ERK tübüler epitel hücrelerinde TGFβ'nin ve SMAD3 ekspresyonunun artmasına neden olur (436). Çoğu çalışmada ERK 1/2 sinyal yolunun inhibisyonunun iskemi reperfüzyon üzerinde yararlı etkiler ortaya çıkardığı bildirilmiştir (435). Farelerde, U0126 enjeksiyonu, sisplatin uygulamasının ardından ERK aktivasyonunu azaltır ve azalmış inflamasyon belirteçleri, kaspaz 3 aktivitesi ve apoptozis eşliğinde önemli bir böbrek koruması sağlar. MEK inhibitörü, U0126, inflamasyonu ve apoptozu azaltarak sisplatin kaynaklı böbrek hasarını hafifletir (437). Anti-Thy1 antikoru tarafından tetiklenen kronik mezangioproliferatif glomerülonefrit modelinde ERK inhibisyonu şle prolifere olan glomerüler hücre sayısını normale döndüğü saptanmıştır (438). Öte yandan membranöz nefropatinin sıçan modelinde ERK yolunun kronik yapısal aktivasyonu, komplemana bağımlı sitotoksisiteyi şiddetlendirmektedir (439).

Bir bütün olarak ele aldığımızda nefrotik sendromda saptadığımız NUP-107 artışı hastalığın patogenezinde yeni bir mekanizmaya işaret etmektedir: NUP-107 artışı, apoptozis yolağını uyaran veya hücre döngüsüne etki eden Apaf-1 ve apoptozis, hücre proliferasyonu, döngüsü, büyümesi ve farklılaşmasını düzenleyen ERK gibi transkripsiyon faktörlerinin nükleer translokasyonu veya adriamisin ilişkili ROS üretimine bağlı ER stresi nedenleri ile meydana gelmiş olabilir. Çalışmamızda gösterdiğimiz NUP-17 artışı ile serum albümin arasındaki negatif yöndeki korelasyon ve glomerular, tubular ve intersitisyel hasar skorları arasındaki pozitif korelasyonlar, NUP-107 inhibisyonunun hedeflenmesinin nefrotik sendrom tedavisindeki olası yararlarını desteklemektedir. NUP-107 ve nefrotik sendrom ilişkisinin ve patogenezde rol oynayan transkripsiyon faktörlerinin anlaşılmasına yardımcı olacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Deneyimizde resveratrol ve metformin tedavileri ile çalışma gruplarında serum trigiliserid ve total kolsterol düzeyleri bakımından herhangi bir fark ortaya çıkmamış ve lipid değerleri normale dönmemiştir. Genel olarak

dislipidemi, diyabetes mellitus, metabolik sendromda yapılan çalışmalar ile metforminin trigliserid sentezini ve şilomikronların temizlenmesini artırarak serum kolesterolünü düşürdüğü (440); resveratrolün ise doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu ve serum kolesterol ve trigliserid düzeylerini azaltıcı etkileri olabileceği bildirilmiştir (441, 442). Wang ve arkadaşları, metforminin Otsuka Long-Evans Tokushima şişman sıçanlarda renal lipotoksisiteyi hafifletmek için yağ asidi sentezini ve birikimini baskıladığını bildirmiştir (443). Metformin, lipid metabolizmasını düzenlemenin yanı sıra, kısmen glukagon benzeri peptit 1 reseptörününün ekpresyonunu artırarak diyabetik nefropati modelinde mezanjiyal hücreleri lipotoksisite kaynaklı apoptozdan koruduğu rapor edilmiştir (444). Akbari ve arkadaşları ise resveratrolün metabolik sendromlu hastalarda serum trigliserid düzeylerini düşürmediğini bulmuştur (445). Bilgilerimize göre literatürde resveratrolün nefrotik sendromdaki hiperlipidemiye olan etkileri ile ilgili bir çalışma varken, metforminin etkileri ile ilgili yayınlanmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Anti-sıçan böbrek glomerüler bazal membran tavşan anti-serumu ile nefrit oluşturulan bir deney modelinde resveratrolün hipotrigliseridemik etkisinin, hipokolesterolemik olandan daha belirgin olduğu bulunmuştur (327). Önceki çalışmalar ve çalışmamız arasındaki çelişkiler, kullanılan hiperlipidemik modellerdeki ve dolayısıyla hiperlipidemi indüksiyonu yapan mekanizmalardaki farklılıklarla açıklanabilir. Örneğin son zamanlarda diğer bozuklukların hiperkolesterolemi patogenezinden farklı olarak kortikal kollektör duktuslarda artmış proprotein konvertaz subtilisin keksin tip-9 ekspresyonunun, primer nefrotik sendromda serum kolesterol artışının başlamasında rol oynayabileceğini gösterilmiştir (446). Sonuç olarak, deney verilerimiz resveratrol ve metformin tedavilerinin, nefrotik sendromda hiperlipidemiyi düzeltici etkilere sahip olamayabileceklerini göstermektedir.

Adriamisin ile oluşturulan nefrotik sendrom modelinde 6. hafta sonunda deney gruplarındaki sıçanların böbrek dokuları glomerüler, interstisyel, tübüler ve damarsal patolojiler açısından karşılaştırıldı. Nefrotik sıçanların böbreklerinde damarsal patolojilerin olamadığı saptandı. Gözlemlerimiz, resveratrol ve metformin tedavileri ile böbrek dokularında

izlenen iskemik kollapsın ve glomerüler hasarın iyileşmesinin, metforminin ek olarak interstisyel hasarın da düzeltmesinin bu ilaçların sahip oldukları anti-apoptotik etkilerinden bağımsız olarak geliştiğini göstermektedir. Çünkü tedavi edilmeyen Grup 1'deki nefrotik sıçanlarda renal doku kaspaz-3 düzeyleri kontrol grubu ile benzerdi ve renal dokuda apoptozis varlığını desteklemiyordu. Patolojik preparatlardaki değişmelerle de kanıtladığımız glomerular ve intersitisyel iyileşmeler metforminin otofajiyi indüklemesi (447), oksidatif stresi azaltması (368), anti-inflamatuar etkiler göstermesi (448), lipotoksiteyi önlemesi ve antifibrotik etkinlikleri (TGFβ1'in reseptörüne bağlanmasını bloke etmesi, Epitelyal-mezenkimal geçişin önlenmesi, yağ asidi oksidasyonunu uyarması, tübüler HIF1α stabilizasyonu) (340) ile açıklanabilir. Öte yandan metformin ER stresinin azaltılmasına katkı sağlayabilir (449). Metformin mTOR inhibisyonu veya glikoz düzenlenmiş protein 78'i (GRP78), ökaryotik başlatma faktörü 2 α'yı (eIF2α) ve CHOP ekspresyonunu inhibe edebilir. Çalışmamızda metforminin IRE-1 düzeylerini azaltarak kaspaz dışı bir yolak ile ER stresini azaltabileceğini saptadık. Metforminin IRE-1 düzeylerini azaltması fakat kaspaz-3 düzeylerinin deney ve kontrol gruplarında benzer olması, metforminin IRE-1'i azaltarak muhtemelen esas olarak inflamasyonun azalmasına ve bu yol ile de böbrek iyileşmesine katkı sağladığına işaret edebilir. Çalışmamızda gösterdiğimiz IRE-1 ve NUP-93 ve 97 arasındaki pozitif korelasyonlar, metforminin yalnız ER stresi azaltması ile değil, aynı zamanda muhtelen ER stresine bağlı artan nükleer translokasyonları azaltarak ta nefrotik sendromda böbreğin iyileşmesine katkı sağladığını göstermektedir. Metforminin çalışmamızda glomerular ve intersitisyel hasar skorlarını iyileştirmesi, metforminin hem literatürde belirtilen TGFβ1'in reseptörüne bağlanmasını ve SMAD3 fosforilasyonunu inhibe etmesi ve aynı zamanda deneyimizde bulduğumuz NUP-93 ekspresyonu azaltarak SMAD gibi transkripsiyon faktörlerinin nükleer translokasyonunu azaltması nedeni ile olabilir (450, 451). Gerçektende TGFβ1/SMAD sinyali fibrozun ana düzenleyicisidir ve bu yolağın aktive olması ile α-düz kas aktin, fibronektin, kollajen I ve vimentinin transkripsiyonlarında artma ve böbrek fibrozisini uyaramak için E-kadherin ekspresyonunda azalma olmaktadır (452).

Resveratrolün nefrotik böbrekler üzerine olan olumlu etkileri ise TGF-β1 ile indüklenen mezangiyal hücre proliferasyonunu inhibe etmesi, renal epitelyal ve mezangiyal hücrelerde oksidatif stres inflamasyon, mitokondriyal süperoksit ve ROS üretimini, mitokondriyal disfonksiyon ve metabolik stresi azaltması; podositlerde zar bütünlüğü ve metabolik akışı koruması ve oksidatif stresi iyileştirmesi (308) ile ortaya çıkan yararlı etkilerinin bir bütünü ile açıklanabilir. Gerçekten de Omachi ve arkadaşlarının yakın zamanda yaptığı bir çalışmada metforminin hem alport sendromu hemde adriamisinin neden olduğu glomerüloskleroz sıçan modelinde proteinüriyi ve glomerüler hasarı da baskıladığı gösterilmiştir (453). Adı geçen çalışmada metformin apoptotik olmayan yolaklardaki böbrek koruyucu p-AMPK (böbrek miyofibroblastlarının TGF-beta1 kaynaklı aktivasyonunu önler), p53 (inflamasyonu azaltır) ve NRF2 (antioksidan gen ekspresyonunun düzenlenmesi) protein ekspresyonunu indüklediği ve p-STAT3, p-mTOR ve p38-MAPK dahil olmak üzere bir çok böbrek hastalığını şiddetlendiren bazı faktörlerin ekspresyonunu ise baskıladığı saptanmıştır. Ancak daha farklı mekanzimalar ile oluşturulan deney modelllerinde, örneğin sisplatin ve yüksek glikozun neden olduğu bir hücre hasarında ve sepsite, metforminin apoptozis azalttığı rapor edilmiştir (385, 454, 455). Çalışmamız olarak resveratrolün AINS'de apoptozisi inhibe etmediğini ve IRE-1 ve ATF-6 yolu ile ER stresini azaltmadığını göstermektedir. Bu noktada apoptozis olan etkiler böbrek hastalığının etiyolojisinden kaynaklanıyor gibi görünmektedir. Diyabetik nefropati, sepsis ve ağır metal zehirlenmelerinde resveratrolün aporozisi azalttığı gözlenirken, resveratrolün podositopatilerde apoptozis üzerine etkili olmadığı söylenebilir. Nitekim çalışmalar podositlerin RSV ile tedavisinin membran bütünlüğünü ve metabolik akışı koruduğunu ileri sürmektedir (308, 318). RSV tedavisi albümin geçirgenliğini, α-SMA protein ve mROS üretimi seviyelerini azaltarak ve mitokondriyal kompleks aktivitelerini artırarak renal işlevleri korumaktadır (308). Çalışmamızda IRE-1 ve kaspaz-12 düzeyleri ile glomerular hasar skoru arasında pozitif bir ilişki olmasına rağmen resveratrolün bu proteinlerin böbrek doku düzeylerini azaltamamış olması, resveratrolün apoptozis azaltmaktan çok podosit membran bütünlüğünü ve metabolik akışını koruduğunu

yönündeki literatür bilgisini desteklemektedir. Öte yandan verilerimize göre resverarol ve NUP-93 ve 107 düzeylerine istatistiksel olarak anlamlı düzeyde etki etmemektedir. Deneyimiz resveratrolün NUP düzeylerini azaltarak çeşitli transkripsiyon faktörlerinin nükleer translokasyonu azaltarak AINS'de yararlı etkiler gösteremeyebileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak IRE-1, NUP-93, kaspaz-12 ve kaspaz-3 ölçümlerimiz ve böbrek dokusunda patolojik olarak kanıtladığımız iyileşmeler, resveratrol ve metforminin nefrotik sendromda immun supresif tedavilerinin yanında destekleyici tedaviler olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Metformin tedavisinin IRE-1 ve NUP-93 düzeylerini azlatması, total protein miktarını artırması ve hem glomerüler hem de interstisyel hasarı iyileştirmesi göz önüne alındığında, destek tedavisi açısından daha önemli rollere sahip olduğu söylenebilir. Resveratrol ve metforminin nefrotik sendromdaki etkinliğini ve hücre içi yolaklarını belirleyecek araştırmaların yapılması bu moleküllerin nefrotik sendrom tedavisindeki yerlerini açığa çıkaracaktır.

Sonuçlar

Bu çalışmada, adriamisin ile NS oluşturulan ratlarda anti-apoptotik proteinler olan kaspaz-3, kaspaz-12, endolazmik retikulum stres proteinlerinden olan IRE1, ATF6, nukleoporinlerden NUP93 ve NUP107'nin böbrek dokusundaki düzeyleri ölçülerek resveratrol ve metformin tedavileri ile olan değişimler de incelenmiştir. Çalışmamız ile aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

1-NUP93 ve NUP107'nin renal doku düzeyleri metformin ve resveratrolle tedavi edilen sıçanlardaki ile benzerdi. Resveratrol ve metformin ile tedavi edilen grup ve tedavisiz gruptaki NUP 107 düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksekti. Tedavisiz grubun NUP 93 düzeyleri kontrol'e göre anlamlı olarak yüksekti. Resveretrol tedavisi ile NUP 93 düzeylerinde herhangi bir değişiklik olmadı. Ancak mertformin ile tedavi edilen ratlarda NUP 93 düzeyleri tedavisiz gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark göstermesede daha düşük bulundu. Metformin ile tedavi edilen ratlarda nup 93 düzeyleri azalarak kontrol grubuyla benzer hale geldi.

2- Resveratrol ve Metformin tedavileri ile böbrek doku KASPAZ 12 düzeyleri kontrol grubuna yüksekti. Resveretrol ve metformin tedavisi ile kaspaz 12 düzeylerinde herhangi bir değişiklik saptanmadı.

3- Çalışma gruplarındaki sıçanların böbrek dokusu kaspaz-3 değerleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

4- Çalışma gruplarındaki sıçanların böbrek dokusu ATF 6 değerleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

5-Tedavisiz grubun İRE 1 düzeyleri kontrol grubuna göre yüksekti. Resveretrol ile tedavi edilen ratlarda İRE 1 düzeyleri tedavisiz grup ile benzerdi. Ancak kontrol grubuna göre yüksekti. Metfromin ile tedavi edilen ratlarda IRE 1 düzeyinde tedavisiz gruba göre düşüş saptandı ve kontrol grubu ile benzer hale geldi.

6- Deneysel nefrotik sendrom oluşturulan ratlarda serum albümin düzeylerindeki azalma, NUP 93, NUP 107, IRE 1, KASPAZ 12 artışı ile birlikte görüldü.

7- Deneysel nefrotik sendrom oluşturulan ratlarda glomerül hasar skorundaki artma, IRE 1, NUP 107, KASPAZ 12 artışı ile birliktedir

8- Deneysel nefrotik sendrom oluşturulan ratlarda tubüler hasar skorundaki artma, KASPAZ 12, NUP 107, IRE 1 artışı ile birlikte saptandı.

9- Deneysel nefrotik sendrom oluşturulan ratlarda interstisyel hasar skorundaki artma, KASPAZ 12, NUP 107, IRE 1 artışı ile birliktedir

10- Regresyon analizine göre glomerüler hasar skorları serum albümin düzeylerini etkileyen en iyi belirleyici faktördü. Öte yandan ölçülen parametreler arasında serum albümin düzeylerine en anlamlı etkiyi gösteren protein kaspaz-12 oldu.

KAYNAKLAR

1. Pippin JW, Brinkkoetter PT, Cormack-Aboud FC et al. Inducible rodent models of acquired podocyte diseases. American Journal of Physiology-Renal Physiology 2009;296:213–29.
2. Cheng H, Harris RC. The glomerulus- a view from the outside- the podocyte. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 2010;42:1380.
3. Leeuwis JW, Nguyen TQ, Dendooven A, Kok RJ, Goldschmeding R. Targeting podocyte-associated diseases. Advanced Drug Delivery Reviews 2010;62:1325–36.
4. Wasilewska A, Rybi SA, Dubiela P. Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome Caused by NUP93 Pathogenic Variants. Journal of Clinical Medicine 2023;12:34
5. Park SJ, Kim Y, Yang SM et al. Discovery of endoplasmic reticulum calcium stabilizers to rescue ER-stressed podocytes in nephrotic syndrome. Proceedings of the National Academy of Sciences 2019;116:14154–63.
6. Zachwieja J, Bobkowski W, Zaniew M, et al. Apoptosis and antioxidant defense in the nephrotic syndrome. Pediatric Nephrology 2003;18:1116–21.
7. Vuren AJ, Gaillard CAJM, Eisenga MF, Vanwijk R, Vanbeers EJ. The EPO-FGF23 Signaling Pathway in Erythroid Progenitor Cells: Opening a New Area of Research. Frontiers in Physiology 2019;10:45-50.
8. Yin S, Ji C, Wu P, Jin C, Qian H. Human umbilical cord mesenchymal stem cells and exosomes: bioactive ways of tissue injury repair. American Journal of Translational Research 2019;11:1230.
9. Erdoğan B, Uzaslan E. Apoptozis Mekanizmaları: Tümör Gelişiminde Fas-FasL Bağımlı Apoptozis. Türkiye Klinikleri Archives of Lung 2003;4:165-74.
10. Opdenbosch N, Lamkanfi M. Caspases in Cell Death, Inflammation, and Disease. Immunity 2019;50:1352–64.
11. Contreras JL, Smyth CA, Bilbao G, et al. Coupling endoplasmic reticulum stress to cell death program in isolated human pancreatic islets: effects of gene transfer of Bcl-2. Transplant International 2003;16:537–42.
12. Nakagawa T, Zhu H, Morishima N et al. Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid-β. Nature 2000;403:98–103.
13. Qi Z, Chen L. Endoplasmic Reticulum Stress and Autophagy. Advances in Experimental Medicine and Biology 2019;1206:167–77.
14. Anelli T, Sitia R. Protein quality control in the early secretory pathway. Embo Journal 2008;27:315–27.
15. Yoshida H, Yoshida CH. ER stress and diseases. FEBS J 2007;274:630–58.
16. Oakes SA, Papa FR. The Role of Endoplasmic Reticulum Stress in Human Pathology. Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease 2015;10:173.

17. Yoshida H, Haze K, Yanagi H, Yura T, Mori K. Identification of the cis-acting endoplasmic reticulum stress response element responsible for transcriptional induction of mammalian glucose-regulated proteins. Involvement of basic leucine zipper transcription factors. Journal of Biological Chemistry 1998;273:33741–49.
18. Schröder M, Kaufman RJ. ER stress and the unfolded protein response. Elsevier 2005;569:29–63.
19. Hetzer MW, Walther TC, Mattaj IW. Pushing the envelope: structure, function, and dynamics of the nuclear periphery. Annual Review of Cell and Developmental Biology 2005;21:347–80.
20. Lin DH, Stuwe T, Schilbach S, et al. Architecture of the nuclear pore complex symmetric core. Science 2016;352:1015.
21. Grandi P, Dang T, Pané N et al. Nup93, a vertebrate homologue of yeast Nic96p, forms a complex with a novel 205-kDa protein and is required for correct nuclear pore assembly. Molecular Biology of the Cell 1997;8:2017–38.
22. Fahrenkrog B. The nuclear pore complex, nuclear transport, and apoptosisThis paper is one of a selection of papers published in this Special Issue, entitled The Nucleus: A Cell Within A Cell 2006;84:279–86.
23. Park E, Ahn YH, Kang HG, at al. NUP107 mutations in children with steroid-resistant nephrotic syndrome. Nephrology Dialysis Transplantation 2017;32:1013–17.
24. Song A, Zhang C, Meng X. Mechanism and application of metformin in kidney diseases. Biomedicine & Pharmacotherapy 2021;138:111.
25. Li J, Gui Y, Ren J, Liu X, et al. Metformin Protects Against Cisplatin-Induced Tubular Cell Apoptosis and Acute Kidney Injury via AMPKα-regulated Autophagy Induction. Scientific Reports 2016 6:1 2016;6:1–11.
26. Declèves AE, Sharma K, Satriano J. Beneficial Effects of AMP-Activated Protein Kinase Agonists in Kidney Ischemia-Reperfusion: Autophagy and Cellular Stress Markers. Nephron Exp Nephrol 2014;128:98–110.
27. Wang M, Weng X, Guo J, et al. Metformin alleviated EMT and fibrosis after renal ischemia–reperfusion injury in rats. Ren Fail 2016;38:614–621.
28. Pandey KB, Rizvi SI. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. Oxid Med Cell Longev 2009;2:270–8.
29. Bo S, Ciccone G, Castiglione A, et al. Anti-inflammatory and antioxidant effects of resveratrol in healthy smokers a randomized, double-blind, placebo-controlled, cross-over trial. Curr Med Chem 2013;20:1323–31.
30. Burns J, Yokota T, Ashihara H, Lean MEJ, Crozier A. Plant foods and herbal sources of resveratrol. J Agric Food Chem 2002;50:3337–40.
31. Niaudet P. Long-term outcome of children with steroid-sensitive idiopathic nephrotic syndrome. Clinical Journal of the American Society of Nephrology 2009;10:1547-8.
32. Wang CS, Greenbaum LA. Nephrotic Syndrome. Pediatric Clinics of North America 2019;66(1):73-85.
33. Banh THM, Hussain-Shamsy N, Patel V, et al. Ethnic Differences in Incidence and Outcomes of Childhood Nephrotic Syndrome. Clinical Journal of the American Society of Nephrology 2016;11:1760–68.

34. Downie ML, Gallibois C, Parekh RS, Noone DG. Nephrotic syndrome in infants and children: Pathophysiology and management. Paediatr Int Child Health 2017;37:248–58.
35. Yurdakök M. Yurdakök Pediatri 1. Baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitapevi; 2017.
36. Noone DG, Iijima K, Parekh R. Idiopathic nephrotic syndrome in children. Lancet 2018;392:61–74.
37. Sales GTM, Foresto RD. Drug-induced nephrotoxicity. Revista da Associação Médica Brasileira 2020;66:82–90.
38. Trautmann A, Vivarelli M, Samuel S, et al. IPNA clinical practice recommendations for the diagnosis and management of children with steroid-resistant nephrotic syndrome. Pediatric Nephrology 2020;35:1529–61.
39. Politano SA, Colbert GB, Hamiduzzaman N. Nephrotic Syndrome. Clinics in Office Practice Prim Care 2020;47:597-613.
40. Vivarelli M, Massella L, Ruggiero B, Emma F. Minimal change disease. Clinical Journal of the American Society of Nephrology 2017;12:332–45.
41. Rovin BH, Adler SG, Barratt J, et al. KDIGO 2021 Clinical Practice Guideline for the Management of Glomerular Diseases. Kidney International 2021;100:1–276.
42. Shabaka A, Ribera AT, Fernández JG. Focal Segmental Glomerulosclerosis: State-of-the-Art and Clinical Perspective. Nephron 2020;144:413–27.
43. Wiggins RC. The spectrum of podocytopathies: a unifying view of glomerular diseases. Kidney International 2007;71:1205–14.
44. Kriz W, Lemley KV. A potential role for mechanical forces in the detachment of podocytes and the progression of CKD. Journal of the American Society of Nephrology 2015;26:258–69.
45. Kriz W, Gretz N, Lemley KV. Progression of glomerular diseases: is the podocyte the culprit? Kidney Internetional 1998;54:687–97.
46. Trachtman H. Emerging drugs for treatment of focal segmental glomerulosclerosis. Expert Opin Emerg Drugs 2020;25:367–75.
47. Avner ED, Harmon WE, Yoshikawa P, Emma F, Goldstein SL. Offıcıally Endorsed By Pediatric Nephrology. 7nd Edition. Newyork: IPNA; 2022.
48. Lamba P, Nam KH, Contractor J, Kim A. Nephritic Syndrome. Primary Care: Clinics in Office Practice 2020;47:615–29.
49. Wang CS, Greenbaum LA. Nephrotic Syndrome. Pediatric Clinics of North America 2019;66:73-85.
50. Sinico RA, Mezzina N, Trezzi B, Ghiggeri GM, Radice A. Immunology of membranous nephropathy: From animal models to humans. Clinical and Experimental Immunology 2016;183:157-65.
51. Tan L, Li S, Yang H, at al. Efficacy and acceptability of immunosuppressive agents for pediatric frequently-relapsing and steroid-dependent nephrotic syndrome: A network meta-analysis of randomized controlled trials. Medicine 2019;98:22.
52. Noone DG, Lijima K, Parekh R. Idiopathic nephrotic syndrome in children. The Lancet 2018;392:61–74.

53. Kemper MJ, Valentin L, van Husen M. Difficult-to-treat idiopathic nephrotic syndrome: established drugs, open questions and future options. Pediatric Nephrology 2018;33:1641-49.
54. Sachdeva S, Khan S, Davalos C, et al. Management of Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome in Children. Cureus 2021;13:484–7.
55. Jin YY, Feng BY, Mao J. The status quo and challenges of genetic diagnosis in children with steroid-resistant nephrotic syndrome. World Journal of Pediatrics 2018;142:105–109.
56. Rood IM, Deegens JKJ, Lugtenberg D, Bongers EMHF, Wetzels JFM. Nephrotic Syndrome With Mutations in NPHS2: The Role of R229Q and Implications for Genetic Counseling. American Journal of Kidney Diseases 2019;73:400–3.
57. Dumas C, Combe C, Rigothier C. Up to date of pathophysiology mechanism of idiopathic nephrotic syndromes: Minimal change disease and focal and segmental glomerulosclerosis. Nephrologie & Therapeutique 2018;14:501–6.
58. Mubarak M, Kazi JI, Shakeel S, et al. Clinicopathologic characterstics and ste-roid response of IgM nephropathy in children pre-senting with idiopathic nephrotic syndrome. APMIS 2011;119:180-6.
59. Giliberti M, Mitrotti A, Gesualdo L. Podocytes: The Role of Lysosomes in the Development of Nephrotic Syndrome. The American Journal of Pathology 2020;190:1172–74.
60. Dembele M, Delafosse M, Yousfi N, et al. Models of glomerular filtration barrier: New developments. Medecine/Sciences 2021;37:242-8.
61. Colucci M, Corpetti G, Emma F, Vivarelli M. Immunology of idiopathic nephrotic syndrome. Pediatric Nephrology 2018;33:573-84.
62. Kaneko K, Tsuji S, Kimata T, et al. Pathogenesis of childhood idiopathic nephrotic syndrome: a paradigm shift from T-cells to podocytes. World Journal of Pediatrics 2015;11:21–8.
63. Lama G, Luongo I, Tirino G, et al. T-lymphocyte populations and cytokines in childhood nephrotic syndrome. American Journal of Kidney Diseases 2002;39:958–65.
64. Ishikura K, Ikeda M, Hattori S, et al. Effective and safe treatment with cyclosporine in nephrotic children: a prospective, randomized multicenter trial. Kidney International 2008;73:1167–73.
65. Lin CY, Hsu HC. Histopathological and immunological studies in spontaneous remission of nephrotic syndrome after intercurrent measles infection. Nephron 1986;42:110–5.
66. Teh YM, Lim SK, Jusoh N, Osman K, Mualif SA. CD80 Insights as Therapeutic Target in the Current and Future Treatment Options of Frequent-Relapse Minimal Change Disease. BioMed Research International 2021;66:15.
67. Reiser J, Von Gersdorff G, Loos M, et al. Induction of B7-1 in podocytes is associated with nephrotic syndrome. Journal of Clinical Investigation 2004;113:1390–7.
68. Printza N, Papachristou F, Tzimouli V, Taparkou A, Kanakoudi F. Peripheral CD19+ B cells are increased in children with active steroid-sensitive nephrotic syndrome. NDT Plus 2009;2:435–6.

69. Ling C, Wang X, Chen Z, et al. Altered B-Lymphocyte Homeostasis in Idiopathic Nephrotic Syndrome. Frontiers in Pediatrics 2019;7:377.
70. Hsiao CC, Tu KH, Hsieh CY, et al. Immunoglobulin E and G Levels in Predicting Minimal Change Disease before Renal Biopsy. BioMed Research International 2018;34:80.
71. Maloney DG, Smith B, Rose A. Rituximab: Mechanism of action and resistance. Seminars in Oncology 2002;29:2–9.
72. Lijima K, Sako M, Kandai N. Rituximab for nephrotic syndrome in children. Clinical and Experimental Nephrology 2017;21:193-202.
73. Elie V, Fakhoury M, Deschênes G, Jacqz E. Physiopathology of idiopathic nephrotic syndrome: lessons from glucocorticoids and epigenetic perspectives. Pediatric Nephrology 2012;27:1249-56.
74. Gbadegesin R, Saleem M, Lipska-Ziętkiewicz BS, Boyer O. Genetic Basis of Nephrotic Syndrome. Pediatric Nephrology 2022;1:261–283.
75. Philippe A, Nevo F, Esquivel EL, et al. Nephrin mutations can cause childhood-onset steroid-resistant nephrotic syndrome. Journal of the American Society of Nephrology 2008;19:1871–78.
76. Kestilä M, Lenkkeri U, Männikkö M, et al. Positionally cloned gene for a novel glomerular protein nephrin is mutated in congenital nephrotic syndrome. Molecular Cell 1998;1:575–82.
77. Boute N, Gribouval O, Roselli S, et al. NPHS2, encoding the glomerular protein podocin, is mutated in autosomal recessive steroid-resistant nephrotic syndrome. Nature Genetics 2000;24:349–54.
78. Noone DG, Lijima K, Parekh R. Idiopathic nephrotic syndrome in children. The Lancet 2018;392:61–74.
79. Shin J, Kronbichler A, Oh J, Meijers B. Nephrotic Syndrome: Genetics, Mechanism, and Therapies. BioMed Research Internationa 2018;2018:28.
80. Cadnapaphornchai MA, Tkachenko O, Shchekochikhin D, Schrier RW. The nephrotic syndrome: Pathogenesis and treatment of edema formation and secondary complications. Pediatric Nephrology 2014;29:1159–67.
81. Benz M, Kinderheilkunde M. Nephrotisches Syndrom im Kindesalter. Springer 2019;167:488-99.
82. Claudio P, Gabriella M. Nephrotic syndrome: pathophysiology and consequences. Journal of Nephrology 2023;36:2179–90.
83. Eddy AA, Symons JM. Nephrotic syndrome in childhood. The Lancet 2003;362:629–39.
84. Günay N, Dursun İ. Nefrotik Sendrom Komplikasyonları-II: Hiperkoagülopati, Lipid Bozuklukları, Endokrin Disfonksiyon. Türkiye Klinikleri Çocuk Nefrolojisi - Özel Konular 2021;2:60–70.
85. Hilmanto D, Mawardi F, Lestari AS, Widiasta A. Disease-Associated Systemic Complications in Childhood Nephrotic Syndrome: A Systematic Review. International Journal of Nephrology and Renovascular Disease 2022;15:53–62.
86. Alfakeekh K, Azar M, Sowailmi B, et al. Immunosuppressive burden and risk factors of infection in primary childhood nephrotic syndrome. Journal of Infection and Public Health 2019;12:90–94.
87. Sharp W, Olivero JJ. Venous Thrombosis in Nephrotic Syndrome. Methodist Debakey Cardiovasculer Journal 2018;14:237.

88. Hari P, Khandelwal P, Smoyer WE. Dyslipidemia and cardiovascular health in childhood nephrotic syndrome. Pediatric Nephrology 2020;35:1601–1619.
89. Uber AM, Sutherland SM. Acute kidney injury in hospitalized children: consequences and outcomes. Pediatric Nephrology 2020 35:213-20.
90. Rheault MN, Zhang L, Selewski DT, et al. AKI in Children Hospitalized with Nephrotic Syndrome. Clinical Journal of the American Society of Nephrology 2015;10:2110–18.
91. Perinandika T, Rachmadi D, Dwiyatnaningrum F. A Study of Hypoalbuminemia and Pleural Effusionin Pediatric Nephrotic Syndrome. Althea Medical Journal 2017;4:188–91.
92. Niaudet P, Langman B(eds). Nephrotic Syndrome: Classification and Evaluation. Pediatric Nephrology: Eighth Edition 2022. 255–60
93. Vaziri ND. Molecular mechanisms of lipid disorders in nephrotic syndrome. Kidney International 2003;63:1964–76.
94. Agrawal S, Zaritsky JJ, Fornoni A, Smoyer WE. Dyslipidaemia in nephrotic syndrome: mechanisms and treatment. Nature Reviews Nephrology 2017;14:57–70.
95. Kerlin BA, Haworth K, Smoyer WE. Venous thromboembolism in pediatric nephrotic syndrome. Pediatric Nephrology 2014;29:989–97.
96. Alwadhi RK, Mathew JL, Rath B. Clinical profile of children with nephrotic syndrome not on glucorticoid therapy, but presenting with infection. Journal of Paediatrics and Child Health 2004;40:28–32.
97. Iorember F, Aviles D. Anemia in nephrotic syndrome: approach to evaluation and treatment. Pediatric Nephrology 2017;32:1323–30.
98. Santangelo L, Netti GS, Giordano P, et al. Indications and results of renal biopsy in children: a 36-year experience. World Journal of Pediatrics 2018;14:127–33.
99. Rovin BH, Adler SG, Barratt J, et al. KDIGO 2021 Clinical Practice Guideline for the Management of Glomerular Diseases. Kidney International 2021;100:1–276.
100. Pereira W, Brito A, Almeida S, et al. The experimental model of nephrotic syndrome induced by Doxorubicin in rodents: an update. Inflammation Research 2015;64:287–301.
101. Cavdar S, Acar AG, Camyar A, et al. Effect of octreotide on oxidative stress in the erythrocyte and kidney tissue in adriamycin-induced experimental nephrotic syndrome model. Jornal brasileiro de nefrologia 2023;46:11.
102. Handa T, Mori KP, Ishii A, et al. Osteocrin ameliorates adriamycin nephropathy via p38 mitogen-activated protein kinase inhibition. Scientific Reports 2021;11:1–15.
103. Tan J, Wang J, Geng L, et al. Comparative Study of Fucoidan from Saccharina japonica and Its Depolymerized Fragment on Adriamycin-Induced Nephrotic Syndrome in Rats. Marine Drugs 2020;18:137.
104. Bertani T, Poggi A, Pozzoni R, et al. Adriamycin-induced nephrotic syndrome in rats: sequence of pathologic events. Laboratory Investigation1982;46:16-23.

105. Sternberg S. Cross-striated fibrils and other ultrastructural alterations in glomeruli of rats with daunomycin nephrosis. Laboratory Investigation 1970;23:39–51.
106. Boer E, Navis G, Tiebosch ATM, Jong PE, Zeeuw D. Systemic factors are involved in the pathogenesis of proteinuria-induced glomerulosclerosis in adriamycin nephrotic rats. Journal of the American Society of Nephrology 1999;10:2359–66.
107. Pedrycz A, Wieczorski M, Czerny K. Pseudoductules in the rat liver in experimental adriamycin-induced nephrotic syndrome. Annales Universitatis Mariae Curie Sklodowska 2002;57:154-60.
108. Whiteside C, Prutis K, Cameron R, Thompson J. Glomerular epithelial detachment, not reduced charge density, correlates with proteinuria in adriamycin and puromycin nephrosis. Laboratory Investigation 1989;650:60.
109. Zeeuw D, Tomasini R, Haas M, et al. Effect of mild charge modification of albumin on renal excretion in the rat. Contributions to Nephrology 1988;68:121–7.
110. Bertolatus JA, Hunsicker LG. Glomerular sieving of anionic and neutral bovine albumins in proteinuric rats. Kidney Internetional 1985;28:467–76.
111. Lee VW, Harris DC. Adriamycin nephropathy: A model of focal segmental glomerulosclerosis. Nephrology 2011;16:30–8.
112. Chen A, Sheu LF, Ho YS, et al. Experimental focal segmental glomerulosclerosis in mice. Nephron 1998;78:440–52.
113. Wang Y, Yi PW, Tay YC, Harris CH. Progressive adriamycin nephropathy in mice: sequence of histologic and immunohistochemical events. Kidney International 2000;58:1797–804.
114. Vivarelli M, Massella L, Ruggiero B, Emma F. Minimal Change Disease. Clinical Journal of the American Society of Nephrology 2017;12:332–45.
115. Fogo AB. Causes and pathogenesis of focal segmental glomerulosclerosis. Nature Reviews Nephrology 2015;11:76.
116. Grossman E, Medalia O, Zwerger M. Functional Architecture of the Nuclear Pore Complex. Annual Review of Biophysics 2012:41:557-84
117. Cronshaw JM, Krutchinsky AN, Zhang W, Chait BT, Matunis MLJ. Proteomic analysis of the mammalian nuclear pore complex. Journal of Cell Biology 2002;158:915–27.
118. Rout MP, Aitchison JD, Suprapto A, et al. The yeast nuclear pore complex: composition, architecture, and transport mechanism. Journal of Cell Biology 2000;148:635–51.
119. Hoelz A, Debler EW, Blobel G. The structure of the nuclear pore complex. Annual Review of Biochemistry 2011;80:613–43.
120. Timney BL, Raveh B, Mironska R, et al. Simple rules for passive diffusion through the nuclear pore complex. Journal of Cell Biology 2016;215:56-7.
121. Rout MP, Aitchison JD, Suprapto A, Hjertaas K, Zhao Y, Chait BT. The yeast nuclear pore complex: composition, architecture, and transport mechanism. Journal of Cell Biology 2000;148:635–51.
122. Jamali T, Jamali Y, Mehrbod M, Mofrad MRK. Nuclear Pore Complex: Biochemistry and Biophysics of Nucleocytoplasmic Transport in Health and

Disease. International Review of Cell and Molecular Biology 2011;287:233–86.
123. Paine PL, Moore LC, Horowitz SB. Nuclear envelope permeability. Nature 1975;254:109–114.
124. Bonner WM. Protein migration into nuclei. I. Frog oocyte nuclei in vivo accumulate microinjected histones, allow entry to small proteins, and exclude large proteins. Journal of Cell Biology 1975;64:421–30.
125. Yang Y, Guo L, Chen L, et al. Nuclear transport proteins: structure, function, and disease relevance. Signal transduction and targeted therapy 2023; 10:425.
126. Jühlen R, Fahrenkrog B. From the sideline: Tissue-specific nucleoporin function in health and disease, an update. FEBS Letters 2023;597:2750–68.
127. Yang W, Gelles J, Musser SM. Imaging of single-molecule translocation through nuclear pore complexes. Proceedings of the National Academy of Sciences 2004;101:12887–92.
128. Ribbeck K, Görlich D. Kinetic analysis of translocation through nuclear pore complexes. The EMBO Journal 2001;20:1320–30.
129. Kapon R, Naim B, Zbaida D, et al. Permeating the nuclear pore complex. Nucleus 2010;1:475.
130. Ori A, Banterle N, Iskar M, et al. Cell type-specific nuclear pores: a case in point for context-dependent stoichiometry of molecular machines. Molecular Systems Biology 2013:9:648.
131. Davis LI, Blobel G. Identification and characterization of a nuclear pore complex protein. Cell 1986;45:699–709.
132. Rout MP, Wente SR. Pores for thought: nuclear pore complex proteins. Trends Cell Biology 1994;4:357–65.
133. Lim RYH, Aebi U, Fahrenkrog B. Towards reconciling structure and function in the nuclear pore complex. Histochemistry and Cell Biology 2008;129:105.
134. Köhler A, Hurt E. Exporting RNA from the nucleus to the cytoplasm. Nature Reviews Molecular Cell Biology 2007;8:761–73.
135. Soniat M, Chook YM. Nuclear localization signals for four distinct karyopherin-β nuclear import systems. Biochemical Journal 2015;468:353–62.
136. Ma J, Yang W. Three-dimensional distribution of transient interactions in the nuclear pore complex obtained from single-molecule snapshots. Proceedings of the National Academy of Sciences 2010;107:7305–10.
137. Stanley GJ, Fassati A, Hoogenboom BW. Biomechanics of the transport barrier in the nuclear pore complex. Seminars in Cell & Developmental Biology 2017;68:42–51.
138. Yang W. Distinct, but not completely separate spatial transport routes in the nuclear pore complex. Nucleus 2013;4:166.
139. Suntharalingam M, Wente SR. Peering through the Pore: Nuclear Pore Complex Structure, Assembly, and Function. Developmental Cell 2003;4:775–789.
140. Dang CV, Lee WMF. Identification of the Human c- myc Protein Nuclear Translocation Signal . Molecular and Cellular Biology 1988;8:4048–54.

141. Kalderon D, Richardson WD, Markham AF, Smith AE. Sequence requirements for nuclear location of simian virus 40 large-T antigen. Nature 1984;311:33–8.
142. Xu D, Farmer A, Chook YM. Recognition of nuclear targeting signals by Karyopherin-β proteins. Current Opinion in Structural Biology 2010;20:782–90.
143. Fahrenkrog B. The nuclear pore complex, nuclear transport, and apoptosis. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology 2006;84:279–86.
144. Antonin W. Nuclear Envelope: Membrane Bending for Pore Formation? Current Biology 2009;19:410–2.
145. Yoneda Y, Hieda M, Nagoshi E, Miyamoto V. Nucleocytoplasmic protein transport and recycling of Ran. Cell Structure and Function 1999;24:425–33.
146. Obado SO, Field MC, Rout MP. Comparative interactomics provides evidence for functional specialization of the nuclear pore complex. Nucleus 2017;8:340–52.
147. Alber F, Dokudovskaya S, Veenhoff LM, et al. The molecular architecture of the nuclear pore complex. Nature 2007;450:695–701.
148. Beck M, Förster F, Ecke M, et al. Nuclear pore complex structure and dynamics revealed by cryoelectron tomography. Science 2004;306:1387–90.
149. Lutzmann M, Kunze R, Buerer A, Aebi U, Hurt E. Modular self-assembly of a Y-shaped multiprotein complex from seven nucleoporins. EMBO Journal 2002;21:387.
150. Belgareh N, Rabut G, Baï SW, et al. An evolutionarily conserved NPC subcomplex, which redistributes in part to kinetochores in mammalian cells. Journal of Cell Biology 2001;154:1147.
151. Jovičič A, Mertens J, Boeynaems S, et al. Modifiers of C9orf72 DPR toxicity implicate nucleocytoplasmic transport impairments in c9FTD/ALS. Nature Neuroscience 2015;18:1226.
152. Le Sage V, Mouland AJ. Viral Subversion of the Nuclear Pore Complex. Viruses 2013;5:2019.
153. Cook A, Bono F, Jinek M, Conti E. Structural biology of nucleocytoplasmic transport. Annual Review of Biochemistry 2007;76:647–71.
154. Dickmanns A, Kehlenbach R. Nuclear pore complexes and nucleocytoplasmic transport: from structure to function to disease. International Review of Cell and Molecular Biology 2015:320:171-233
155. Beck M, Hurt E. The nuclear pore complex: understanding its function through structural insight. Nature Reviews Molecular Cell Biology 2016 18:2 2016;18:73–89.
156. Kosinski J, Mosalaganti S, Appen A, et al. Molecular architecture of the inner ring scaffold of the human nuclear pore complex. Science 2016;352:363–65.
157. Raices M. Nuclear pore complexes and regulation of gene expression. Current Opinion in Cell Biology 2017;46:26-32.
158. Funasaka T, Wong RW. The role of nuclear pore complex in tumor microenvironment and metastasis. Cancer and Metastasis Reviews 2011;30:239–251.

159. Nataraj NB, Noronha A, Lee JS, et al. Nucleoporin-93 reveals a common feature of aggressive breast cancers: robust nucleocytoplasmic transport of transcription factors. Cell Reports 2022;38:110418.
160. Braun DA, Sadowski CE, Kohl S, et al. Mutations in nuclear pore genes NUP93, NUP205 and XPO5 cause steroid-resistant nephrotic syndrome. Nature Genetics 2016 48:4 2016;48:457–65.
161. Braun DA, Lovric S, Schapiro D, et al. Mutations in multiple components of the nuclear pore complex cause nephrotic syndrome. Journal of Clinical Investigation 2018;128:4313–28.
162. Jühlen R, Fahrenkrog B. From the sideline: Tissue-specific nucleoporin function in health and disease, an update. FEBS Letters 2023;597:2750–68.
163. Lai LYS, Gracie NP, Gowripalan A, Howell LM, Newsome TP. SMAD proteins: Mediators of diverse outcomes during infection. European Journal of Cell Biology 2022;101:151.
164. González AC, Askjaer P. Dissecting the NUP107 complex. Nucleus 2012;3:340–348.
165. Strambio C, Niepel M, Rout MP. The nuclear pore complex: bridging nuclear transport and gene regulation. Nature Reviews Molecular Cell Biology 2010;11:490–501.
166. Fernandez MJ, Phillips J, Sekedat MD, et al. Structure-function mapping of a heptameric module in the nuclear pore complex. Journal of Cell Biology 2012;196:419–34.
167. Lutzmann M, Kunze R, Buerer A, Aebi U, Hurt E. Modular self-assembly of a Y-shaped multiprotein complex from seven nucleoporins. EMBO Journal 2002;21:387–97.
168. Ródenas E, González-Aguilera C, Ayuso C, Askjaer P. Dissection of the NUP107 nuclear pore subcomplex reveals a novel interaction with spindle assembly checkpoint protein MAD1 in Caenorhabditis elegans. Molecular Biology of the Cell 2012;23:930–44.
169. Rabut G, Doye V, Ellenberg J. Mapping the dynamic organization of the nuclear pore complex inside single living cells. Nature Cell Biology 2004;6:1114–1121.
170. Miyake N, Tsukaguchi H, Koshimizu E, et al. Biallelic Mutations in Nuclear Pore Complex Subunit NUP107 Cause Early-Childhood-Onset Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome. American Journal of Human Genetics 2015;97:555.
171. Sevier CS, Kaiser CA. Formation and transfer of disulphide bonds in living cells. Nature Reviews Molecular Cell Biology 2002;3:836–47.
172. Tu BP, Weissman JS. Oxidative protein folding in eukaryotes: mechanisms and consequences. Journal of Cell Biology 2004;164:341–46.
173. Merksamer PI, Trusina A, Papa FR. Real-time redox measurements during endoplasmic reticulum stress reveal interlinked protein folding functions. Cell 2008;135:933–47.
174. Ma Y, Hendershot LM. ER chaperone functions during normal and stress conditions. Journal of Chemical Neuroanatomy 2004;28:51–65.
175. Harding HP, Calfon M, Urano F, Novoa I, Ron D. Transcriptional and translational control in the Mammalian unfolded protein response. Annual Review of Cell and Developmental Biology 2002;18:575–99.

176. Mori K. Tripartite management of unfolded proteins in the endoplasmic reticulum. Cell 2000;101:451–54.
177. Patil C, Walter P. Intracellular signaling from the endoplasmic reticulum to the nucleus: the unfolded protein response in yeast and mammals. Current Opinion in Cell Biology 2001;13:349–55.
178. Yoshida H. ER stress and diseases. FEBS Journal 2007;274:630–58.
179. Chen X, Shi C, He M, Xiong S, Xia X. Endoplasmic reticulum stress: molecular mechanism and therapeutic targets. Signal Transduction and Targeted Therapy 2023; 15;8(1):352.
180. Song JY, Wang XG, Zhang ZY, et al. Endoplasmic reticulum stress and the protein degradation system in ophthalmic diseases. PeerJ 2020;8:8638.
181. Libby RT, Gould DB. Endoplasmic reticulum stress as a primary pathogenic mechanism leading to age-related macular degeneration. Advances in Experimental Medicine and Biology 2010;664:403–9.
182. Corazzari M, Gagliardi M, Fimia GM, Piacentini M. Endoplasmic Reticulum Stress, Unfolded Protein Response, and Cancer Cell Fate. Frontiers in Oncology 2017;26:7.
183. Hu H, Tian M, Ding C, Yu S. The C/EBP Homologous Protein (CHOP) Transcription Factor Functions in Endoplasmic Reticulum Stress-Induced Apoptosis and Microbial Infection. Frontiers in Immunology 2018;9:3083.
184. Boyce M, Yuan J. Cellular response to endoplasmic reticulum stress: a matter of life or death. Cell Death & Differentiation 2006;13:363–73.
185. Morishima N, Nakanishi K, Takenouchi H, Shibata T, Yasuhiko Y. An Endoplasmic Reticulum Stress-specific Caspase Cascade in Apoptosis: Cytochrome C-Independent Actıvatıon Of Caspase-9 By Caspase-12. Journal of Biological Chemistry 2002;277:34287–94.
186. Cybulsky AV. Endoplasmic reticulum stress, the unfolded protein response and autophagy in kidney diseases. Nature Reviews Nephrology 2017;13:681–96.
187. Wang X, Zhao J, Li Y, Rao J, Xu G. Epigenetics and endoplasmic reticulum in podocytopathy during diabetic nephropathy progression. Frontiers in Immunology 2022;13:1090989.
188. Xu C, Bailly-Maitre B, Reed JC. Endoplasmic reticulum stress: cell life and death decisions. Journal of Clinical Investigation 2005;115:2656–64.
189. Zhang K, Kaufman RJ. The unfolded protein response: a stress signaling pathway critical for health and disease. Neurology 2006;24:102-9
190. Oyadomari S, Mori M. Roles of CHOP/GADD153 in endoplasmic reticulum stress. Cell Death & Differentiation 2004;11:381–89.
191. Kitamura M. Endoplasmic reticulum stress in glomerulonephritis: the bad guy turns good? Journal of the American Society of Nephrology 2009;20:1871–73.
192. Inagi R. Endoplasmic reticulum stress as a progression factor for kidney injury. Current Opinion in Pharmacology 2010;10:156–65.
193. Hinkes BG, Mucha B, Vlangos CN, et al. 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 2007;119:907-19
194. Schell C, Huber TB. New players in the pathogenesis of focal segmental glomerulosclerosis. Nephrology Dialysis Transplantation 2012;27:3406–12.

195. Liu L, Doné SC, Khoshnoodi J, et al. Defective nephrin trafficking caused by missense mutations in the NPHS1 gene: insight into the mechanisms of congenital nephrotic syndrome. Human Molecular Genetics 2001;10:2637–44.
196. Ohashi T, Uchida K, Uchida S, Sasaki S, Nihei H. Intracellular mislocalization of mutant podocin and correction by chemical chaperones. Histochemistry and Cell Biology 2003;119:257–64.
197. Khoshnoodi J, Cartailler JP, Alvares K, Veis A, Hudson BG. Molecular recognition in the assembly of collagens: terminal noncollagenous domains are key recognition modules in the formation of triple helical protomers. Journal of Biological Chemistry 2006;281:38117–21.
198. Miner JH, Sanes JR. Collagen IV alpha 3, alpha 4, and alpha 5 chains in rodent basal laminae: sequence, distribution, association with laminins, and developmental switches. Journal of Biological Chemistry 1994;127:879–91.
199. Park SJ, Kim Y, Chen YM. Endoplasmic reticulum stress and monogenic kidney diseases in precision nephrology. Pediatric Nephrology 2019;34:1493.
200. Gast C, Pengelly RJ, Lyon M, et al. Collagen (COL4A) mutations are the most frequent mutations underlying adult focal segmental glomerulosclerosis. Nephrology Dialysis Transplantation 2016;31:961–70.
201. Fedeles SV, So JS, Shrikhande A, et al. Sec63 and Xbp1 regulate IRE1α activity and polycystic disease severity. Journal of Clinical Investigation 2015;125:1955–67.
202. Zimmermann R, Müller L, Wullich B. Protein transport into the endoplasmic reticulum: mechanisms and pathologies. Trends in Molecular Medicine 2006;12:567–73.
203. Eckardt KU, Alper SL, Antignac C, et al. Autosomal dominant tubulointerstitial kidney disease: diagnosis, classification, and management--A KDIGO consensus report. Kidney International 2015;88:676–83.
204. Rampoldi L, Scolari F, Amoroso A, Ghiggeri G, Devuyst O. The rediscovery of uromodulin: from tubulointerstitial nephropathy to chronic kidney disease. Kidney International 2011;80:338–47.
205. Rampoldi L, Caridi G, Santon D, et al. Allelism of MCKD, FJHN and GCKD caused by impairment of uromodulin export dynamics. Human Molecular Genetics 2003;12:3369–84.
206. Kemter E, Prueckl P, Sklenak S, et al. Type of uromodulin mutation and allelic status influence onset and severity of uromodulin-associated kidney disease in mice. Hum Mol Genet 2013;22:4148–4163.
207. Bernascone I, Janas S, Ikehata M, et al. A transgenic mouse model for uromodulin-associated kidney diseases shows specific tubulo-interstitial damage, urinary concentrating defect and renal failure. Human Molecular Genetics 2010;19:2998–3010.
208. Cybulsky AV, Takano T, Papillon J, Bijian K. Role of the endoplasmic reticulum unfolded protein response in glomerular epithelial cell injury. Journal of Biological Chemistry 2005;280:24396–403.
209. Cybulsky AV, Takano T, Papillon J, et al. Complement C5b-9 membrane attack complex increases expression of endoplasmic reticulum

stress proteins in glomerular epithelial cells. Journal of Biological Chemistry 2002;277:41342–51.
210. Nakajo A, Khoshnoodi J, Takenaka H, et al. Mizoribine corrects defective nephrin biogenesis by restoring intracellular energy balance. Journal of the American Society of Nephrology 2007;18:2554–64.
211. Cybulsky AV, Takano T, Papillon J, et al. Glomerular epithelial cell injury associated with mutant alpha-actinin-4. American Journal of Physiology-Renal Physiology 2009;297:987-95.
212. Markan S, Kohli HS, Joshi K et al. Up regulation of the GRP-78 and GADD-153 and down regulation of Bcl-2 proteins in primary glomerular diseases: a possible involvement of the ER stress pathway in glomerulonephritis. Molecular and Cellular Biochemistry 2009;324:131–8.
213. Liu G, Sun Y, Li Z, et al. Apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress involved in diabetic kidney disease. Biochemical and Biophysical Research Communications 2008;370:651–6.
214. Ricciardi CA, Gnudi L. The endoplasmic reticulum stress and the unfolded protein response in kidney disease: Implications for vascular growth factors. Journal of Cellular and Molecular Medicine 2020;24:12910.
215. Shen J, Prywes R. Dependence of site-2 protease cleavage of ATF6 on prior site-1 protease digestion is determined by the size of the luminal domain of ATF6. Journal of Biological Chemistry 2004;279:43046–51.
216. Shen J, Chen X, Hendershot L, Prywes R. ER stress regulation of ATF6 localization by dissociation of BiP/GRP78 binding and unmasking of Golgi localization signals. Developmental Cell 2002;3:99–111.
217. Chen X, Shen J, Prywes R. The luminal domain of ATF6 senses endoplasmic reticulum stress and causes translocation of ATF6 from the ER to the Golgi. Journal of Biological Chemistry 2002;277:13045–52.
218. Seydel ŞG, Aksoy K, Endoplazmik Retikulum Stresi ve Apoptozis Mekanizması. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi 2012; 21:221-235.
219. Bravo R, Parra V, Gatica D, et al. Endoplasmic reticulum and the unfolded protein response: dynamics and metabolic integration. International Review of Cell and Molecular Biology 2013;301:215–290.
220. Mundel P, Shankland SJ. Podocyte biology and response to injury. Journal of the American Society of Nephrology 2002;13:3005–15.
221. Pavenstädt H, Kriz W, Kretzler M. Cell biology of the glomerular podocyte. International Review of Cell and Molecular Biology 2003;83:253–307.
222. Fries JWU, Sandstrom DJ, Meyer TW, Rennke HG. Glomerular hypertrophy and epithelial cell injury modulate progressive glomerulosclerosis in the rat. Laboratory Investigation 1989;60:205–18.
223. Kriz W, Kriz W. Progressive renal failure-inability of podocytes to replicate and the consequences for development of glomerulosclerosis IMephrology Dialysis Transplantation Progressive renal failure-inability of podocytes to replicate and the consequences for development of glomerulosclerosis. Nephrology Dialysis Transplantation 1996;11:1738–42.
224. Mostafa RG, Aleem A, Mahmoud EA, Ahmed FR, Elzorkany KM. A pilot study on gene expression of endoplasmic reticulum unfolded protein response

in chronic kidney disease. Biochemistry and Biophysics Reports 2020;24:100829.
225. Peng CC, Chen CR, Chen CY, et al. Nifedipine Upregulates ATF6-α, Caspases -12, -3, and -7 Implicating Lipotoxicity-Associated Renal ER Stress. International Journal of Molecular Sciences 2020;21:.
226. Yuan Q, Xu T, Chen Y, et al. MiR-185-5p ameliorates endoplasmic reticulum stress and renal fibrosis by downregulation of ATF6. Laboratory Investigation 2020;100:1436–46.
227. Kandemir FM, Ileriturk M, Gur C. Rutin protects rat liver and kidney from sodium valproate-induce damage by attenuating oxidative stress, ER stress, inflammation, apoptosis and autophagy. Molecular Biology Reports 2022;49:6063–74.
228. Schröder M, Kaufman RJ. ER stress and the unfolded protein response. Mutation Research 2005;569:29–63.
229. Adams CJ, Kopp MC, Larburu N, Nowak PR, Ali MMU. Structure and molecular mechanism of ER stress signaling by the unfolded protein response signal activator IRE1. Frontiers in Molecular Biosciences 2019;6:439177.
230. Yoshida S, Wei X, Zhang G, et al. Endoplasmic reticulum–associated degradation is required for nephrin maturation and kidney glomerular filtration function. Journal of Clinical Investigation 2021;131:143988.
231. Back SH, Kang SW, Han J, Chung HT. Endoplasmic reticulum stress in the β-cell pathogenesis of type 2 diabetes. Journal of Diabetes Research 2012;2012:618396.
232. Kaufman DR, Papillon J, Larose L, Iwawaki T, Cybulsky AV. Deletion of inositol-requiring enzyme-1α in podocytes disrupts glomerular capillary integrity and autophagy. Molecular Biology of the Cell 2017;28:1636.
233. Liang Y, Qu L, Liu Z, Liang L, Wang Y, Quan S, et al. The IRE1/JNK signaling pathway regulates inflammation cytokines and production of glomerular extracellular matrix in the acute kidney injury to chronic kidney disease transition. Molecular Biology of the Cell 2022;49:7709–18.
234. Luo CJ, Luo F, Bu QD et al. Protective effects of resveratrol on acute kidney injury in rats with sepsis. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Republic 2020;164:49–56.
235. Qiu L, Zheng X, Jaishankar D et al. Beyond UPR: cell-specific roles of ER stress sensor IRE1α in kidney ischemic injury and transplant rejection. Kidney International 2023;104:463–69.
236. Issa W, Njeim R, Carrazco A, Burke GW, Mitrofanova A. Role of the Innate Immune Response in Glomerular Disease Pathogenesis: Focus on Podocytes. Cells 2024;6:13.
237. Navarro JR, Papillon J, Guillemette J, et al. Role of IRE1α in podocyte proteostasis and mitochondrial health. Cell Death Discovery 2020; 6: 128.
238. Madhusudhan T, Wang H, Dong W et al. Defective podocyte insulin signalling through p85-XBP1 promotes ATF6-dependent maladaptive ER-stress response in diabetic nephropathy. Nature Communications 2015;10:6.
239. Hassan H, Tian X, Inoue K, et al. Essential Role of X-Box Binding Protein-1 during Endoplasmic Reticulum Stress in Podocytes. Journal of the American Society of Nephrology 2016;27:1055–65.

240. Battson ML, Lee DM, Gentile CL. Endoplasmic reticulum stress and the development of endothelial dysfunction. American Journal of Physiology 2017;312:355–67.
241. Zeng L, Xiao Q, Chen M, et al. Vascular endothelial cell growth-activated XBP1 splicing in endothelial cells is crucial for angiogenesis. Circulation 2013;127:1712–22.
242. Margariti A, Li H, Chen T, et al. XBP1 mRNA splicing triggers an autophagic response in endothelial cells through BECLIN-1 transcriptional activation. Journal of Biological Chemistry 2013;288:859–72.
243. Chen JH, Wu CH, Jheng JR, et al. The down-regulation of XBP1, an unfolded protein response effector, promotes acute kidney injury to chronic kidney disease transition. Journal of Biomedical Science 2022;29:46.
244. Ishikawa Y, Fedeles S, Marlier A, et al. Spliced XBP1 Rescues Renal Interstitial Inflammation Due to Loss of Sec63 in Collecting Ducts. Journal of the American Society of Nephrology 2019;30:443–59.
245. Ferrè S, Deng Y, Huen SC, et al. Renal tubular cell spliced X-box binding protein 1 (Xbp1s) has a unique role in sepsis-induced acute kidney injury and inflammation. Kidney International 2019;96:1359–73.
246. Wagner MC, Rhodes G, Wang E, et al. Ischemic injury to kidney induces glomerular podocyte effacement and dissociation of slit diaphragm proteins Neph1 and ZO-1. J Biol Chem 2008;283:35579–89.
247. Raymundo DP, Doultsinos D, Guillory X, et al. Pharmacological Targeting of IRE1 in Cancer. Trends Cancer 2020;6:1018–30.
248. Harnoss JM, Thomas A, Shemorry A, et al. Disruption of IRE1α through its kinase domain attenuates multiple myeloma. Proceedings of the National Academy of Sciences 2019;116:16420–29.
249. Mimura N, Fulciniti M, Gorgun G, et al. Blockade of XBP1 splicing by inhibition of IRE1α is a promising therapeutic option in multiple myeloma. Blood 2012;119:5772-81.
250. Feldman HC, Ghosh R, Auyeung VC, et al. ATP-competitive partial antagonists of the IRE1α RNase segregate outputs of the UPR. Nature Chemical Biology 2021;17:1148–56.
251. Hu SJ, Jiang SS, Zhang J, et al. Effects of apoptosis on liver aging. World Journal of Clinical Cases 2019;7:691–704.
252. Çıkla SP, Küçükgüzel ŞG. Recent Advances in Apoptosis: THE Role of Hydrazones. Mini Rev Med Chem 2019;19:1427–42.
253. Mosquera-Sulbaran JA, Pedreañez A, Vargas R, Hernandez-Fonseca JP. Apoptosis in post-streptococcal glomerulonephritis and mechanisms for failed of inflammation resolution. Pediatric Nephrology 2023 39:6 2023;39:1709–24.
254. Bender LM, Morgan MJ, Thomas LR, Liu ZG, Thorburn A. The adaptor protein TRADD activates distinct mechanisms of apoptosis from the nucleus and the cytoplasm. Cell Death & Differentiation 2005 12:5 2005;12:473–81.
255. Öktem S, Özhan MH, Özol D. Apoptozisin Önemi. Toraks Dergisi, 2001;2:91-5.
256. Ahr B, Robert HV, Devaux C, Biard-Piechaczyk M. Apoptosis of uninfected cells induced by HIV envelope glycoproteins. Retrovirology 2004;1:12.

257. Staley K, Blaschke AJ, Chun J. Apoptotic DNA fragmentation is detected by a semi-quantitative ligation-mediated PCR of blunt DNA ends. Cell Death & Differentiation 1997;4:66–75.
258. Igney FH, Krammer PH. Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis. Nature Reviews Cancer 2002;2:277–88.
259. Kim JH, Lee SY, Oh SY, et al. Methyl jasmonate induces apoptosis through induction of Bax/Bcl-X sand activation of caspase-3 via ROS production in A549 cells. Oncology Reports 2004;12:1233–38.
260. Bossen C, Ingold K, Tardivel A, et al. Interactions of tumor necrosis factor and TNF receptor family members in the mouse and human. Journal of Biological Chemistry 2006;281:13964–71.
261. Samraj AK, Keil E, Ueffing N, Schulze-Osthoff K, Schmitz I. Loss of caspase-9 provides genetic evidence for the type I/II concept of CD95-mediated apoptosis. Journal of Biological Chemistry 2006;281:29652–59.
262. Spencer SL, Gaudet S, Albeck JG, Burke JM, Sorger PK. Non-genetic origins of cell-to-cell variability in TRAIL-induced apoptosis. Nature 2009;459:428–32.
263. D'Arcy MS. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. Cell Biology International 2019;43:582–92.
264. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. Toxicologic Pathology 2007;35:495–516.
265. Batandier C, Leverve X, Fontaine E. Opening of the mitochondrial permeability transition pore induces reactive oxygen species production at the level of the respiratory chain complex I. Journal of Biological Chemistry 2004;279:17197–204.
266. Du C, Fang M, Li Y, Li L, Wang X. Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition. Cell 2000;102:33–42.
267. Susin SA, Lorenzo HK, Zamzami N, et al. Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor. Nature 1999;397:441–6.
268. Joza N, Susin SA, Daugas E, et al. Essential role of the mitochondrial apoptosis-inducing factor in programmed cell death. Nature 2001;410:549–554.
269. Parrish A. Cellular mechanisms controlling caspase activation and function. cshperspectives. Spring Harbor perspectives in biology 2013; 1:5.
270. Ozawa H, Keane RW, Marcillo AE, Diaz PH, Dietrich WD. Therapeutic strategies targeting caspase inhibition following spinal cord injury in rats. Experimental Neurology 2002;177:306–13.
271. Lamkanfi M, Dixit VM. Mechanisms and Functions of Inflammasomes. Cell 2014;157:1013–22.
272. McIlwain DR, Berger T, Mak TW. Caspase Functions in Cell Death and Disease. Cold Spring Harbor perspectives in biology 2013;5:1–28.
273. Tang D, Lotze MT, Kang R, Zeh HJ. Apoptosis promotes early tumorigenesis. Oncogene 2011;30:1851–54.
274. Lavrik IN. Systems biology of apoptosis signaling networks. Current Opinion in Biotechnology 2010;21:551–5.

275. Yuanming H, Benedict MA, Ding L, Núñez G. Role of cytochrome c and dATP/ATP hydrolysis in Apaf-1-mediated caspase-9 activation and apoptosis. EMBO Journal 1999;18:3586–95.
276. Elmore S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. Toxicologic Pathology 2007;35:495.
277. Kelly KJ, Sandoval RM, Dunn KW, Molitoris BA, Dagher PC. A novel method to determine specificity and sensitivity of the TUNEL reaction in the quantitation of apoptosis. American Journal of Physiology-Cell Physiology 2003;284:1309-18.
278. Bao F, Liu D. Peroxynitrite generated in the rat spinal cord induces apoptotic cell death and activates caspase-3. Neuroscience 2003;116:59–70.
279. Yuanming H, Benedict MA, Ding L, Núñez G. Role of cytochrome c and dATP/ATP hydrolysis in Apaf-1-mediated caspase-9 activation and apoptosis. EMBO Journal 1999;18:3586–95.
280. Kacheva S, Lenzen S, Gurgul-Convey E. Differential effects of proinflammatory cytokines on cell death and ER stress in insulin-secreting INS1E cells and the involvement of nitric oxide. Cytokine 2011;55:195–201.
281. Nakagawa T, Zhu H, Morishima N, et al. Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid-beta. Nature 2000;403:98–103.
282. Cui W, Ma J, Wang X, Yang W, Zhang J, Ji Q. Free fatty acid induces endoplasmic reticulum stress and apoptosis of β-cells by Ca2+/calpain-2 pathways. Plos One 2013;8:e59921.
283. Guo H, Wang M, Shang Y, et al. Apoptosis-related prognostic biomarkers and potential targets for acute kidney injury based on machine learning algorithm and in vivo experiments. Apoptosis 2023;1:1–18.
284. Wong RSY. Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. J Exp Clin Cancer Res 2011;30:87.
285. Radi E, Formichi P, Battisti C, Federico A. Apoptosis and oxidative stress in neurodegenerative diseases. Journal of Alzheimer's Disease 2014;42:125–52.
286. Saikumar P, Venkatachalam MA. Role of Apoptosis in Hypoxic/Ischemic Damage in the Kidney. Seminars in Nephrology 2003;23:511–521.
287. Shimizu A, Masuda Y, Kitamura H, et al. Complement-Mediated Killing of Mesangial Cells in Experimental Glomerulonephritis: Cell Death by a Combination of Apoptosis and Necrosis. Nephron 2000;86:152–160.
288. Haslett C. Resolution of acute inflammation and the role of apoptosis in the tissue fate of granulocytes. Clinical Science 1992;83:639–48.
289. Teh YM, Mualif SA, Lim SK. A comprehensive insight into autophagy and its potential signaling pathways as a therapeutic target in podocyte injury. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 2022;143:106153.
290. Ogawa AA, Sugiyama H, Kitagawa M, et al. Podocyte autophagy is associated with foot process effacement and proteinuria in patients with minimal change nephrotic syndrome. Plos One 2020;15:e0228337.
291. Baines RJ, Brunskill NJ. Tubular toxicity of proteinuria. Nature Reviews Nephrology 2011;7:177–80.

292. Nolin AC, Mulhern RM, Panchenko MV, et al. Proteinuria causes dysfunctional autophagy in the proximal tubule. American Journal of Physiology-Renal Physiology 2016;311:1271–9.
293. Sharma S, Smyth B. From Proteinuria to Fibrosis: An Update on Pathophysiology and Treatment Options. Kidney and Blood Pressure Research 2021;46:411–20.
294. Hasan MM, Bae H. An Overview of Stress-Induced Resveratrol Synthesis in Grapes: Perspectives for Resveratrol-Enriched Grape Products. Molecules 2017;22:294.
295. Érsek T, Király Z. Phytoalexins: Warding-off compounds in plants? Plant Physiology 1986;68:343–6.
296. Goldberg DM, Ng E, Yan J, et al. Regional differences in resveratrol isomer concentrations of wines from various cultivars. Journal of Food Composition and Analysis 1999;12:227-33.
297. Park EJ, Pezzuto JM. The pharmacology of resveratrol in animals and humans. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease 2015;1852:1071–113.
298. Sanders TH, McMichael RW, Hendrix KW. Occurrence of Resveratrol in Edible Peanuts. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2000;48:1243–46.
299. Bola C, Bartlett H, Eperjesi F. Resveratrol and the eye: Activity and molecular mechanisms. Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology 2014;252:699–713.
300. Lin SC, Ho CT, Chuo WH, et al. Effective inhibition of MERS-CoV infection by resveratrol. BMC Infectious Diseases 2017;17:1–10.
301. Bhullar KS, Hubbard BP. Lifespan and healthspan extension by resveratrol. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease 2015;1852:1209–18.
302. Cui X, Jin Y, Hofseth AB, et al. Resveratrol suppresses colitis and colon cancer associated with colitis. Cancer Prevention Research 2010;3:549–59.
303. Athar M, Back JH, Tang X, et al. Resveratrol: A review of preclinical studies for human cancer prevention. Toxicology and Applied Pharmacology 2007;224:274–83.
304. Burns J, Yokota T, Ashihara H, Lean MEJ, Crozier A. Plant Foods and Herbal Sources of Resveratrol. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2002;50:3337–40.
305. El-Mohsen MA, Bayele H, Kuhnle G, et al. Distribution of [3H]trans-resveratrol in rat tissues following oral administration. British Journal of Nutrition 2006;96:62.
306. Juan ME, Maijó M, Planas JM. Quantification of trans-resveratrol and its metabolites in rat plasma and tissues by HPLC. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 2010;51:391–98.
307. Uchida Y, Yamazaki H, Watanabe S, et al. Enhancement of NF-kappaB activity by resveratrol in cytokine-exposed mesangial cells. Clinical and Experimental Immunology 2005;142:76–83.
308. Venkatesan B, 1, Choudhury NG, Das F at al. Resveratrol inhibits PDGF receptor mitogenic signaling in mesangial cells: role of PTP1B. 2008;22(10):3469-82

309. Xu Y, Nie L, Yin YG, et al. Resveratrol protects against hyperglycemia-induced oxidative damage to mitochondria by activating SIRT1 in rat mesangial cells. Toxicology and Applied Pharmacology 2012;259:395–401.
310. Zhang L, Pang S, Deng B, et al. High glucose induces renal mesangial cell proliferation and fibronectin expression through JNK/NF-κB/NADPH oxidase/ROS pathway, which is inhibited by resveratrol. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 2012;44:629–38.
311. Xu F, Wang Y, Cui W, et al. Resveratrol Prevention of Diabetic Nephropathy Is Associated with the Suppression of Renal Inflammation and Mesangial Cell Proliferation: Possible Roles of Akt/NF-κB Pathway. International Journal of Endocrinology 2014;2014:289327.
312. Smith PL, Buffington DA, Humes HD. Kidney epithelial cells. Methods in Enzymology 2006;419:194–207.
313. Lee MJ, Feliers D, Sataranatarajan K, et al. Resveratrol ameliorates high glucose-induced protein synthesis in glomerular epithelial cells. Cell Signal 2010;22:65–70.
314. Hong SH, Lee HJ, Sohn EJ, et al. Anti-nephrolithic potential of resveratrol via inhibition of ROS, MCP-1, hyaluronan and osteopontin in vitro and in vivo. Pharmacological Reports 2013;65:970–9.
315. Wu M, Gu J, Mei S, et al. Resveratrol delays polycystic kidney disease progression through attenuation of nuclear factor κB-induced inflammation. Nephrology Dialysis Transplantation 2016;31:1826–34.
316. Wang N, Mao L, Yang L, et al. Resveratrol protects against early polymicrobial sepsis-induced acute kidney injury through inhibiting endoplasmic reticulum stress-activated NF-κB pathway. Oncotarget 2017;8:36449–61.
317. Pavenstädt H. Roles of the podocyte in glomerular function. American Journal of Physiology-Renal Physiology 2000;278:173-9
318. Yang R, Zhu X, Zhang H. Study of resveratrol suppressing TGF-beta1 induced transdifferentiation of podocytes. Europe PMC 2013;33(12):1677-82.
319. Zhang T, Chi Y, Kang Y, et al. Resveratrol ameliorates podocyte damage in diabetic mice via SIRT1/PGC-1α mediated attenuation of mitochondrial oxidative stress. Journal of Cellular Physiology 2019;234:5033–43.
320. Zhang W, Liu Y, Ge M, et al. Protective effect of resveratrol on arsenic trioxide-induced nephrotoxicity in rats. Nutrition Research and Practice 2014;8:220–6.
321. Xiao Z, Chen C, Meng T, Zhang W, Zhou Q. Resveratrol attenuates renal injury and fibrosis by inhibiting transforming growth factor-β pathway on matrix metalloproteinase 7. Experimental Biology and Medicine 2016;241:140–6.
322. Fu B, Zhao J, Peng W, Wu H, Zhang Y. Resveratrol rescues cadmium-induced mitochondrial injury by enhancing transcriptional regulation of PGC-1α and SOD2 via the Sirt3/FoxO3a pathway in TCMK-1 cells. Biochemical and Biophysical Research Communications 2017;486:198–204.
323. Saldanha JF, Leal VO, Rizzetto F, et al. Effects of Resveratrol Supplementation in Nrf2 and NF-κB Expressions in Nondialyzed Chronic

Kidney Disease Patients: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Crossover Clinical Trial. Journal of Renal Nutrition 2016;26:401–6.
324. Lin CT, Sun XY, Lin AX. Supplementation with high-dose trans-resveratrol improves ultrafiltration in peritoneal dialysis patients: a prospective, randomized, double-blind study. Renal Failure 2016;38:214–21.
325. Yuan D, Liu XM, Fang Z, et al. Protective effect of resveratrol on kidney in rats with diabetic nephropathy and its effect on endoplasmic reticulum stress. European Review for Medical and Pharmacological Sciences 2018;22:1485–93.
326. Zhang J, Dong XJ, Ding MR, et al. Resveratrol decreases high glucose-induced apoptosis in renal tubular cells via suppressing endoplasmic reticulum stress. Molecular Medicine Reports 2020;22:4367.
327. Nihei T, Miura Y, Yagasaki K. Inhibitory effect of resveratrol on proteinuria, hypoalbuminemia and hyperlipidemia in nephritic rats. Life Sciences 2001;68:2845-52.
328. Szewczuk LM, Forti L, Stivala LA, Penning TM. Resveratrol is a peroxidase-mediated inactivator of COX-1 but not COX-2: a mechanistic approach to the design of COX-1 selective agents. Journal of Biological Chemistry 2004;279:22727–37.
329. Chandrasekharan NV, Dai H, Roos KLT, et al. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. Proceedings of the National Academy of Sciences 2002;99:13926-31.
330. Li J, Li L, Wang S, et al. Resveratrol Alleviates Inflammatory Responses and Oxidative Stress in Rat Kidney Ischemia-Reperfusion Injury and H2O2-Induced NRK-52E Cells via the Nrf2/TLR4/NF-κB Pathway. Cell Physiol Biochem 2018;45:1677–89.
331. Manna SK, Mukhopadhyay A, Aggarwal BB. Resveratrol suppresses TNF-induced activation of nuclear transcription factors NF-kappa B, activator protein-1, and apoptosis: potential role of reactive oxygen intermediates and lipid peroxidation. The Journal of Immunology 2000;164:6509–19.
332. Wang T, Wu F, Jin Z, et al. Plumbagin inhibits LPS-induced inflammation through the inactivation of the nuclear factor-kappa B and mitogen activated protein kinase signaling pathways in RAW. Food Chem Toxicol 2014;64:177–183.
333. Wang Y, Wang B, Qi X, Zhang X, Ren K. Resveratrol Protects Against Post-Contrast Acute Kidney Injury in Rabbits With Diabetic Nephropathy. rontiers in Pharmacology 2019;10:833.
334. Li HL, Yan Z, Ke ZP, et al. IGFBP2 is a potential biomarker in acute kidney injury (AKI) and resveratrol-loaded nanoparticles prevent AKI. Oncotarget 2018;9:36551–60.
335. Hui Y, Lu M, Han Y, et al. Resveratrol improves mitochondrial function in the remnant kidney from 5/6 nephrectomized rats. Acta Histochem 2017;119:392–9.
336. Wang X, Meng L, Zhao L, et al. Resveratrol ameliorates hyperglycemia-induced renal tubular oxidative stress damage via modulating the SIRT1/FOXO3a pathway. Diabetes Res Clin Pract 2017;126:172–181.

337. Liu S, Zhao M, Zhou Y, et al. Resveratrol exerts dose-dependent anti-fibrotic or pro-fibrotic effects in kidneys: A potential risk to individuals with impaired kidney function. Phytomedicine 2019;57:223–35.
338. Uddin MJ, Farjana M, Moni A, et al. Prospective Pharmacological Potential of Resveratrol in Delaying Kidney Aging. International Journal of Molecular Sciences 2021;22:8258.
339. Frangogiannis NG. Transforming growth factor–β in tissue fibrosis. Journal of Experimental Medicine 2020;13:217.
340. Pan Q, Lu X, Zhao C, et al. Metformin: the updated protective property in kidney disease. Aging 2020;12:8742.
341. Hyun B, Shin S, Lee A, et al. Metformin Down-regulates TNF-α Secretion via Suppression of Scavenger Receptors in Macrophages. Immune Network 2013;13:123.
342. Fryer L, Parbu PA. The anti-diabetic drugs rosiglitazone and metformin stimulate AMP-activated protein kinase through distinct signaling pathways. Journal of Biological Chemistry 2002;12:25226-32
343. Hardie DG. AMP-activated/SNF1 protein kinases: conserved guardians of cellular energy. Nature Reviews Molecular Cell Biology 2007;8(10):774-85.
344. Egan DF, Shackelford DB, Mihaylova MM, et al. Phosphorylation of ULK1 (hATG1) by AMP-activated protein kinase connects energy sensing to mitophagy. Science 2011;331:456–461.
345. Petersen KF, Befroy D, Dufour S, et al. Mitochondrial dysfunction in the elderly: possible role in insulin resistance. Science 2003;300:1140–2.
346. Poluzzi C, Nastase MV, Zeng-Brouwers J, et al. Biglycan evokes autophagy in macrophages via a novel CD44/Toll-like receptor 4 signaling axis in ischemia/reperfusion injury. Kidney International 2019;95:540–62.
347. Jiang M, Liu K, Luo J, Dong Z. Autophagy is a renoprotective mechanism during in vitro hypoxia and in vivo ischemia-reperfusion injury. American Journal of Pathology 2010;176:1181–92.
348. Jiang M, Wei Q, Dong G, et al. Autophagy in proximal tubules protects against acute kidney injury. Kidney International 2012;82:1271–83.
349. Duann P, Lianos EA, Ma J, Lin PH. Autophagy, Innate Immunity and Tissue Repair in Acute Kidney Injury. International Journal of Molecular Sciences 2016;17(5):662.
350. Shang L, Wang X. AMPK and mTOR coordinate the regulation of Ulk1 and mammalian autophagy initiation. Autophagy 2011;7:924–6.
351. Saisho Y. Metformin and Inflammation: Its Potential Beyond Glucose-lowering Effect. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets 2015;15:196–205.
352. Kim H, Moon SY, Kim JS, et al. Activation of AMP-activated protein kinase inhibits ER stress and renal fibrosis. American Journal of Physiology-Renal Physiology 2015;308:226–36.
353. Jin J, Ma Y, Tong X, et al. Metformin inhibits testosterone-induced endoplasmic reticulum stress in ovarian granulosa cells via inactivation of p38 MAPK. Human Reproduction 2020;35:1145–58.
354. Mayer S, Thulin G, Zhang L, et al. Preactivation of AMPK by metformin may ameliorate the epithelial cell damage caused by renal ischemia. 2011;301:1346–57.

355. Wang M, Weng X, Guo J, et al. Metformin alleviated EMT and fibrosis after renal ischemia-reperfusion injury in rats. Renal Failure 2016;38:614–21.
356. Borges CM, Fujihara CK, Malheiros DMAC, et al. Metformin arrests the progression of established kidney disease in the subtotal nephrectomy model of chronic kidney disease. American Journal of Physiology-Renal Physiology 2020;318:1229–36.
357. Lee M, Katerelos M, Gleich K, et al. Phosphorylation of acetyl-CoA carboxylase by AMPK reduces renal fibrosis and is essential for the anti-fibrotic effect of metformin. Journal of the American Society of Nephrology 2018;29(9):2326-36
358. Liang D, Song Z, Liang W, Li Y. Metformin inhibits TGF-beta 1-induced MCP-1 expression through BAMBI-mediated suppression of MEK/ERK1/2 signalling. Nephrology 2018;24:481–8.
359. Shen Y, Miao N, Xu J, at al. Metformin prevents renal fibrosis in mice with unilateral ureteral obstruction and inhibits Ang II-induced ECM production in renal fibroblasts. International Journal of Molecular Sciences 2016;17(2):146.
360. Sun H, Zhou Y, Ma R, et al. Metformin protects 5-Fu-induced chemotherapy oral mucositis by reducing endoplasmic reticulum stress in mice. European Journal of Pharmaceutical Sciences 2022;1:173.
361. Schröder M. Endoplasmic reticulum stress responses. Cellular and Molecular Life Sciences 2008;65:862–94.
362. Xu C, Bailly MB. Endoplasmic reticulum stress: cell life and death decisions. Journal of Clinical Investigation 2005;115(10):2656-64.
363. Wang M, Weng X, Guo J, et al. Metformin alleviated EMT and fibrosis after renal ischemia–reperfusion injury in rats. Renal Failure 2016;38:614–21.
364. Lee VW, Harris DC. Adriamycin nephropathy: a model of focal segmental glomerulosclerosis. Nephrology 2011;16:30–38.
365. Fan H, Wang X, Li X, et al. Curcumin, as a pleiotropic agent, improves doxorubicin-induced nephrotic syndrome in rats. Journal Ethnopharmacol 2020;25:250.
366. Wu JB, Ye SF, Liang CL, et al. Qi-Dan Fang ameliorates adriamycin-induced nephrotic syndrome rat model by enhancing renal function and inhibiting podocyte injury. Journal Ethnopharmacol 2014;151:1124–32.
367. Den Hartogh DJ, Tsiani E. Health Benefits of Resveratrol in Kidney Disease: Evidence from In Vitro and In Vivo Studies. Nutrients 2019;11(7):1624.
368. Morales AI, Detaille D, Prieto M, et al. Metformin prevents experimental gentamicin-induced nephropathy by a mitochondria-dependent pathway. Kidney International 2010;77:861–9.
369. Wang W, Tzanidis A, Divjak M, Thomson NM, Stein-Oakley AN. Altered signaling and regulatory mechanisms of apoptosis in focal and segmental glomerulosclerosis. Journal of the American Society of Nephrology 2001;12:1422–33.
370. Li Y, Jiang X, Song L, Yang M, Pan J. Anti-apoptosis mechanism of triptolide based on network pharmacology in focal segmental glomerulosclerosis rats. Bioscience Reports 2020;40:9.

371. Xiao B, Wang LN, Li W, et al. Plasma microRNA panel is a novel biomarker for focal segmental glomerulosclerosis and associated with podocyte apoptosis. Cell Death Disease 2018;9:533.
372. Niranjan T, Bielesz B, Gruenwald A, et al. The Notch pathway in podocytes plays a role in the development of glomerular disease. Nature Medicine 2008;14:290–8.
373. Zhuang Q, Li F, Liu J, et al. Nuclear exclusion of YAP exacerbates podocyte apoptosis and disease progression in Adriamycin-induced focal segmental glomerulosclerosis. Laboratory Investigation 2021;101:258–70.
374. Yang SM, Chan YL, Hua KF, et al. Osthole improves an accelerated focal segmental glomerulosclerosis model in the early stage by activating the Nrf2 antioxidant pathway and subsequently inhibiting NF-κB-mediated COX-2 expression and apoptosis. Free Radical Biology and Medicine 2014;73:260–9.
375. Yang SM, Hua KF, Lin YC, et al. Citral Is Renoprotective for Focal Segmental Glomerulosclerosis by Inhibiting Oxidative Stress and Apoptosis and Activating Nrf2 Pathway in Mice. Plos One 2013;8:74871.
376. Liu G, He L. Epigallocatechin-3-Gallate Attenuates Adriamycin-Induced Focal Segmental Glomerulosclerosis via Suppression of Oxidant Stress and Apoptosis by Targeting Hypoxia-Inducible Factor-1α/ Angiopoietin-Like 4 Pathway. Pharmacology 2019;103:303–14.
377. Galluzzi L, Aaronson SA, Abrams J, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring cell death in higher eukaryotes. Cell Death & Differentiation 2009;16:1093–107.
378. Kriz W, Shirato I, Nagata M, LeHir M, Lemley KV. The podocyte's response to stress: the enigma of foot process effacement. American Journal of Physiology-Renal Physiology 2013;304: 333-47.
379. Vogelmann SU, Nelson WJ, Myers BD, Lemley KV. Urinary excretion of viable podocytes in health and renal disease. American Journal of Physiology-Renal Physiology 2003;285: 40-8.
380. Nagata M. Podocyte injury and its consequences. Kidney International 2016;89:1221-30.
381. Ibrahim MA, Morsy MA, Hafez HM, Gomaa WM, Abdelrahman AM. Effect of selective and non-selective cyclooxygenase inhibitors on doxorubicin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity in rats. Toxicology Mechanisms and Methods 2012;22:424–31.
382. Saad SY, Najjar TA, Al-Rikabi AC. The preventive role of deferoxamine against acute doxorubicin-induced cardiac, renal and hepatic toxicity in rats. Pharmacological Research 2001;43:211–8.
383. Mohajeri M, Sahebkar A. Protective effects of curcumin against doxorubicin-induced toxicity and resistance: A review. Critical Reviews in Oncology/Hematology 2018;122:30–51.
384. Eskandari E, Eaves CJ. Paradoxical roles of caspase-3 in regulating cell survival, proliferation, and tumorigenesis. Journal of Cell Biology 2022;221:e202201159.
385. Kim DH, Jung YJ, Lee JE, et al. SIRT1 activation by resveratrol ameliorates cisplatin-induced renal injury through deacetylation of p53. American Journal of Physiology-Renal Physiology 2011;301: 427-35.

386. Liu G, Wang Q, Shi Y, et al. Resveratrol Attenuates Adriamycin-Induced Focal Segmental Glomerulosclerosis through C3aR/C5aR- Sphingosine Kinase 1 Pathway. Pharmacology 2017;100:253–60.
387. Hwang J, Qi L. Quality Control in the Endoplasmic Reticulum: Crosstalk between ERAD and UPR pathways. Trends Biochem Sci 2018;43:593–605.
388. Zito E. Targeting ER stress/ER stress response in myopathies. Redox Biology 2019;26: 101232.
389. Wu D, Huang LF, Chen XC, et al. Research progress on endoplasmic reticulum homeostasis in kidney diseases. Cell Death & Disease 2023;14:1–12.
390. Kim Y, Park SJ, Manson SR, et al. Elevated urinary CRELD2 is associated with endoplasmic reticulum stress-mediated kidney disease. JCI Insight 2017;2:e92896.
391. Akchurin O, Reidy KJ. Genetic causes of proteinuria and nephrotic syndrome: impact on podocyte pathobiology. Pediatric Nephrology 2015;30:221–33.
392. Cybulsky AV, Takano T, Papillon J. Podocyte Injury and Albuminuria in Mice with Podocyte-Specific Overexpression of the Ste20-Like Kinase, SLK. The American Journal of Pathology 2010;177:2290–99.
393. Min SY, Ha DS, Ha TS. Puromycin aminonucleoside triggers apoptosis in podocytes by inducing endoplasmic reticulum stress. Kidney Research and Clinical Practice 2018;37:210.
394. Lindenmeyer MT, Rastaldi MP, Ikehata M, et al. Proteinuria and Hyperglycemia Induce Endoplasmic Reticulum Stress. Journal of the American Society of Nephrology 2008;19:2225.
395. Bek MF, Bayer M, Müller B, et al. Expression and function of C/EBP homology protein (GADD153) in podocytes. The American Journal of Pathology 2006;168:20–32.
396. Kitamura M. Biphasic, bidirectional regulation of NF-kappaB by endoplasmic reticulum stress. Antioxid Redox Signal 2009;11:2353–64.
397. Szegezdi E, Logue SE, Gorman AM, Samali A. Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. EMBO Reports 2006;7:880–5.
398. Quistgaard EM. BAP31: Physiological functions and roles in disease. Biochimie 2021;186:105–129.
399. Jao TM, Nangaku M, Wu CH et al. ATF6α downregulation of PPARα promotes lipotoxicity-induced tubulointerstitial fibrosis. Kidney International 2019;95:577–89.
400. Peng CC, Chen CR, Chen CY, et al. Nifedipine upregulates atf6-α, caspases-12,-3, and-7 implicating lipotoxicity-associated renal er stress. International Journal of Molecular Sciences 2020;21:3147.
401. Tang X, Liang X, Li M, et al. ATF6 pathway of unfolded protein response mediates advanced oxidation protein product-induced hypertrophy and epithelial-to-mesenchymal transition in HK-2 cells. Molecular and Cellular Biochemistry 2015;407:197–207.
402. Ali EA, Batsh MM, Safan MAE, et al. The protective effect of metformin and exenatide on doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. Menoufia Medical Journal 2021;34:1060–67.

403. Lahoti T, Patel D, Thekkemadom V, et al. Doxorubicin-induced in vivo nephrotoxicity involves oxidative stress-mediated multiple pro- and anti-apoptotic signaling pathways. Current Neurovascular Research 2012;9:282–95.
404. Susztak K, Raff AC, Schiffer M, Böttinger EP. Glucose-Induced Reactive Oxygen Species Cause Apoptosis of Podocytes and Podocyte Depletion at the Onset of Diabetic Nephropathy. Diabetes 2006;55:225–33.
405. Lehtonen S. Metformin Protects against Podocyte Injury in Diabetic Kidney Disease. Pharmaceuticals 2020;13:1–26.
406. Granato M, Gilardini MS, Romeo MA, et al. Metformin triggers apoptosis in PEL cells and alters bortezomib-induced Unfolded Protein Response increasing its cytotoxicity and inhibiting KSHV lytic cycle activation. Cell Signal 2017;40:239–47.
407. Kapadia P, Bikkina P, Landicho MA, et al. Effect of anti-hyperglycemic drugs on endoplasmic reticulum (ER) stress in human coronary artery endothelial cells. European Journal of Pharmacology 2021;15:907.
408. Tanjore H, Lawson WE, Blackwell TS. Endoplasmic reticulum stress as a pro-fibrotic stimulus. Biochimica et Biophysica Acta 2013;1832:940–947.
409. Menu P, Mayor A, Zhou R, et al. ER stress activates the NLRP3 inflammasome via an UPR-independent pathway. Cell Death Disease 2012;3:261.
410. Fang L, Xie D, Wu X, et al. Involvement of endoplasmic reticulum stress in albuminuria induced inflammasome activation in renal proximal tubular cells. Plos One 2013;20:8.
411. Liang Y, Liu Z, Qu L, et al. Inhibition of the IRE1/JNK pathway in renal tubular epithelial cells attenuates ferroptosis in acute kidney injury. Front Pharmacol 2022;13:927641.
412. Ahmadi A, Hayes AW, Karimi G. Resveratrol and endoplasmic reticulum stress: A review of the potential protective mechanisms of the polyphenol. Phytotherapy Research 2021;35:5564–83.
413. Li S, Zhao G, Chen L, et al. Resveratrol protects mice from paraquat-induced lung injury: The important role of SIRT1 and NRF2 antioxidant pathways. Molecular Medicine Reports 2016;13:1833–38.
414. Yan WJ, Liu RB, Wang LK, et al. Sirt3-Mediated Autophagy Contributes to Resveratrol-Induced Protection against ER Stress in HT22 Cells. Frontiers in Neuroscience 2018;12:116.
415. Kang MK, Park SH, Kim YH, et al. Chrysin ameliorates podocyte injury and slit diaphragm protein loss via inhibition of the PERK-eIF2α-ATF-CHOP pathway in diabetic mice. Acta Pharmacologica Sinica 2017;38:1129–40.
416. Wang Y, Feng F, Liu M, Xue J, Huang H. Resveratrol ameliorates sepsis-induced acute kidney injury in a pediatric rat model via Nrf2 signaling pathway. Experimental and Therapeutic Medicine 2018;16:3233.
417. Zhang C, Zhou Y, Zhou Y, Lu Y, Wang D. Regulation of eIF2α expression and renal interstitial fibrosis by resveratrol in rat renal tissue after unilateral ureteral obstruction. Renal Failure 2016;38:622–8.
418. Posey KL. Curcumin and Resveratrol: Nutraceuticals with so Much Potential for Pseudoachondroplasia and Other ER-Stress Conditions. Biomolecules 2024;14:.

419. Li Y, Xu C, Zhao F, et al. Podocyte-specific Nup160 knockout mice develop nephrotic syndrome and glomerulosclerosis. Human Molecular Genetics 2024;33:667–76.
420. Hashimoto T, Harita Y, Takizawa K, et al. In Vivo Expression of NUP93 and Its Alteration by NUP93 Mutations Causing Focal Segmental Glomerulosclerosis. Kidney International Reports 2019;4:1312–22.
421. Cason RK, Williams A, Chryst SM, et al. Collapsing Focal Segmental Glomerulosclerosis in Siblings With Compound Heterozygous Variants in NUP93 Expand the Spectrum of Kidney Phenotypes Associated With Nucleoporin Gene Mutations. Frontiers in Pediatrics 2022;10:7.
422. Han Y, Sha H, Yang Y, et al. Mutations in the NUP93, NUP107 and NUP160 genes cause steroid-resistant nephrotic syndrome in Chinese children. Italian Journal of Pediatrics 2024;50:81.
423. Wang P, Zhao F, Nie X, Liu J, Yu Z. Knockdown of NUP160 inhibits cell proliferation, induces apoptosis, autophagy and cell migration, and alters the expression and localization of podocyte associated molecules in mouse podocytes. Gene 2018;664:12–21.
424. Ester L, Cabrita I, Ventzke M, et al. The role of the FSGS disease gene product and nuclear pore protein NUP205 in regulating nuclear localization and activity of transcriptional regulators YAP and TAZ. Human Molecular Genetics 2023;32:3153–65.
425. Xie J, Yuan Y, Yao G, et al. Nucleoporin 160 (NUP160) inhibition alleviates diabetic nephropathy by activating autophagy. Bioengineered 2021;12:6390–402.
426. Li J, Zou Y, Kantapan J, et al. TGF β/Smad signaling in chronic kidney disease: Exploring post translational regulatory perspectives (Review). Molecular Medicine Reports 2024;30:143.
427. Yu R, Tian M, He P, et al. Suppression of LMCD1 ameliorates renal fibrosis by blocking the activation of ERK pathway. Biochimica et Biophysica Acta 2022;1869:119200.
428. Yi H, Huang C, Shi Y, et al. Metformin attenuates folic-acid induced renal fibrosis in mice. Journal of Cellular Physiology 2018;233:7045–54.
429. Nong J, Zhou X, Liu J, et al. Nucleoporin 107 is a prognostic biomarker in hepatocellular carcinoma associated with immune infiltration. Cancer Medicine 2023;12:10990–1009.
430. Guan Y, Gao X, Tang Q, et al. Nucleoporin 107 facilitates the nuclear export of Scn5a mRNA to regulate cardiac bioelectricity. Journal of Cellular and Molecular Medicine 2019;23:1448–57.
431. Zheng X, Yang S, Han Y, et al. Loss of Zygotic NUP107 Protein Causes Missing of Pharyngeal Skeleton and Other Tissue Defects with Impaired Nuclear Pore Function in Zebrafish Embryos. Journal of Biological Chemistry 2012;287:38254.
432. Jagot LL, Faye A, Bruzzoni GH, et al. DNA damage-induced nuclear translocation of Apaf-1 is mediated by nucleoporin Nup107. Cell Cycle 2015;14:1242.
433. Zermati Y, Mouhamad S, Stergiou L, et al. Nonapoptotic role for Apaf-1 in the DNA damage checkpoint. Moleculer Cell 2007;28:624–37.

434. Kim SY, Kang HT, Choi HR, Park SC. Reduction of Nup107 attenuates the growth factor signaling in the senescent cells. Biochemical and Biophysical Research Communications 2010;401:131–6.
435. Kong T, Liu M, Ji B, et al. Role of the Extracellular Signal-Regulated Kinase 1/2 Signaling Pathway in Ischemia-Reperfusion Injury. Frontiers in Physiology 2019;10:1038.
436. Leivonen SK, Häkkinen L, Liu D, Kähäri VM. Smad3 and extracellular signal-regulated kinase 1/2 coordinately mediate transforming growth factor-beta-induced expression of connective tissue growth factor in human fibroblasts. Journal of Investigative Dermatology 2005;124:1162–69.
437. Kim DU, Kim DG, Choi JW, et al. Loganin Attenuates the Severity of Acute Kidney Injury Induced by Cisplatin through the Inhibition of ERK Activation in Mice. International Journal of Molecular Sciences 2021;22:1–12.
438. Bokemeyer D, Panek D, Kramer HJ, et al. In vivo identification of the mitogen-activated protein kinase cascade as a central pathogenic pathway in experimental mesangioproliferative glomerulonephritis. Journal of the American Society of Nephrology 2002;13:1473–80.
439. Cybulsky AV., Takano T, Papillon J, Bijian K, Guillemette J. Activation of the extracellular signal-regulated kinase by complement C5b-9. American Journal of Physiology-Renal Physiology Physiol 2005;289:593-603.
440. He L. Metformin and Systemic Metabolism. Trends Pharmacol Sci 2020;41:868–81.
441. Xie HC, Han HP, Chen Z, He JP. A Study on the Effect of Resveratrol on Lipid Metabolism in Hyperlipidemic Mice. African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines 2014;11:209.
442. Rasković A, Cucuz V, Torovic L, et al. Resveratrol supplementation improves metabolic control in rats with induced hyperlipidemia and type 2 diabetes. Saudi Pharmaceutical Journal 2019;27:1036.
443. Wang W, Guo X, Wu H, Wang N , Xu X. Effect of fenofibrate and metformin on lipotoxicity in OLETF rat kidney. Journal of Peking University Health Sciences 2006;38:170–5.
444. Kim D, Park MJ, Heo YR, Park SH. Metformin ameliorates lipotoxicity-induced mesangial cell apoptosis partly via upregulation of glucagon like peptide-1 receptor (GLP-1R). Archives of Biochemistry and Biophysics 2015;584:90–7.
445. Akbari M, Tamtaji OR, Lankarani KB, et al. The effects of resveratrol on lipid profiles and liver enzymes in patients with metabolic syndrome and related disorders: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Lipids in Health and Disease 2020;19:25.
446. Molina JE, Gambut S, Mace C, Avila CC, Clement LC. Secretion of the epithelial sodium channel chaperone PCSK9 from the cortical collecting duct links sodium retention with hypercholesterolemia in nephrotic syndrome. Kidney International 2020;98:1449–60.
447. Lin TA, Wu VCC, Wang CY. Autophagy in Chronic Kidney Diseases. Cells 2019;8:61
448. Zhou Z, Tang Y, Jin X, et al. Metformin Inhibits Advanced Glycation End Products-Induced Inflammatory Response in Murine Macrophages Partly

through AMPK Activation and RAGE/NF κ B Pathway Suppression. Journal of Diabetes Research 2016;2016:4847812.
449. Wiernsperger N. Metformin as a cellular protector; a synoptic view of modern evidences. Journal Nephropharmacol 2015;4:31.
450. Xiao H, Zhang J, Xu Z, et al. Metformin is a novel suppressor for transforming growth factor (TGF)-β1. Scientific Reports 2016;6:28.
451. Feng Y, Wang S, Zhang Y, Xiao H. Metformin attenuates renal fibrosis in both AMPKα2-dependent and independent manners. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology 2017;44:648–55.
452. Meng XM, Nikolic DJ, Lan HY. TGF-β: the master regulator of fibrosis. Nature Reviews Nephrology 2016;12:325–38.
453. Omachi K, Kaseda S, Yokota T, et al. Metformin ameliorates the severity of experimental Alport syndrome. Scientific Reports 2021;11:1–16.
454. Xu S, Gao Y, Zhang Q, et al. SIRT1/3 Activation by Resveratrol Attenuates Acute Kidney Injury in a Septic Rat Model. Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2016;2016:1-12.
455. Wang F, Li R, Zhao L, Ma S, Qin G. Resveratrol ameliorates renal damage by inhibiting oxidative stress-mediated apoptosis of podocytes in diabetic nephropathy. European Journal of Pharmacology 2020;885:173387.

EKLER

Ek-1: Kısaltmalar

NS	Nefrotik sendrom
ER	Endoplazmik retikulum
APSGN	APSGN
FSGS	Fokal segmental glomerüloskleroz
MezPGN	Mezengioproliferatif glomerülonefrit
MGN	Membranöz glomerülonefrit
MDH	Minimal değişiklik hastalığı
MPGN	Membranoproliferatif glomerülonefrit
SLE	Sistemik lupus eritematozus
TG	Trigliserid
VLDL	Çok düşük dansiteli lipoprotein
TK	Total kolesterol
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
GC	Glukokortikoid
NPK	Nükleer por kompleksi
NLS	Nükleer lokalizasyon sinyali
NTR	Nükleer taşıma reseptörü
NES	Nükleer export sinyali
DISC	Ölüme neden olan sinyal kompleksi
SMAC	Küçük mitokondriden türetilmiş kaspaz aktivatörü
AIF	Apoptozu indükleyen faktörler
SLE	Sistemik lupus eritematozus
GBM	Glomerular bazal membran
RTX	Rituksimab
VTE	Venöz tromboembolizm
ATE	Arteriyel tromboembolizm
AMP	Adenosin Mono-Fosfat

AMPK	Aktive edilmiş protein kinaz
TNF	Tümör nekroz faktör
Apaf-1	Apopototik protez aktive edici faktör-1
UPR	Katlanmamış protein yanıtı
SDNS	Steroid dirençli nefrotik sendrom
SYNS	Steroid yanıtlı nefrotik sendrom
SBNS	Steroid bağımlı nefrotik sendrom
ATF 6	Aktive Edici Transkiripsiyon Faktör 6
IRE 1	Inositol Gerektiren Enzim-1
NUP	Nükleoporin
NUP 93	Nükleoporin 93
NUP 107	Nükleoporin 107

Ek 2-Şekil Dizini

Şekil-1: Ödem mekanizması..... 16
Şekil-2: Nefrotik sendrom ve lipid bozuklukları..... 17
Şekil-3: Adriamisin ile indüklenen nefropatide podosit ve inflamatuar değişikliklerin şematik görünümü 28
Şekil-4: Nükleer por kompleks ve bölümleri. 31
Şekil-5: Nükleer gözenek kompleksi yapısı ve bileşimi.. 32
Şekil-6: NUP93 mutasyonlarının ve bunlarla ilişkili bozuklukların dağılımı.. 36
Şekil-7: TGF-β ve BMP sinyal yolunun SMAD kompleksleriyle birlikte şematik gösterimi. 38
Şekil-8: NUP107 mutasyonlarının ve bunlarla ilişkili bozuklukların dağılımı.. 39
Şekil-9: Katlanmamış protein yanıt sinyal yolları..... 42
Şekil-10: ER stresi ve bozunma yolları 43
Şekil-11: CHOP'un endojen yol kaynaklı apoptozdaki işlevleri..... 44
Şekil-12: ER stresinin neden olduğu inflamasyonun mekanizmaları 46
Şekil-13: ER stresi/UPR geçici veya sürekli aktivasyonu, sırasıyla doku iyileşmesini/yaralanmayı ve sağlıklı/bozulmuş vasküler remodellemeyi modüle eder..... 51
Şekil-14: IRE1a sinyal ağı ve böbrek parankimal hücreleri ile bağışıklık hücrelerindeki işlevlerinin şematik gösterimi. 55
Şekil-15: Apoptoz mekanizmaları..... 59
Şekil-16: Resveratrol ve etki mekanizması. 73
Şekil-17: Doku fibrozisinde TGF-β sinyal yolları..... 74
Şekil-18: Adriamisin ile indüklenen nefrotik sendromun deneysel tasarımı. 82
Şekil-19: Tüm gruplarda serum total kolesterol, albümin ve trigliserid değerlerinin karşılaştırılması. 86
Şekil-20: Deney gruplarında ölçülen NUP 107 düzeyleri…….88
Şekil-21: Deney gruplarında ölçülen NUP 93 düzeyleri..... 89
Şekil-22: Deney gruplarında ölçülen KASPAZ 12 düzeyleri 91
Şekil-23: Deney gruplarında ölçülen kaspaz-3 düzeyleri..... 91

Şekil-24: Çalışma gruplarında ölçülen ATF 6 değerleri 93
Şekil-25: Çalışma gruplarında ölçülen İRE 1 düzeyleri 94
Şekil-26: Deneysel nefrotik sendrom oluşturulan ratlarda serum albümin düzeyleri ile NUP 93, NUP 107, IRE 1, KASPAZ 12 arasındaki ilişki..... 97
Şekil-27: Deneysel nefrotik sendrom oluşturulan ratlarda NUP 93 ile IRE 1, KASPAZ 12 arasındaki ilişki 98
Şekil-28: Deneysel nefrotik sendrom oluşturulan ratlarda NUP 107 ile IRE 1 ve KASPAZ 12 arasındaki ilişki..... 99
Şekil-29: Deneysel nefrotik sendrom oluşturulan ratlarda IRE 1 ile KASPAZ 12 arasındaki ilişki..... 100
Şekil-30: Deneysel nefrotik sendrom oluşturulan ratlarda IRE 1, KASPAZ 12, NUP 107 ile glomerüler, tübüler ve interstisyel hasar skoru arasındaki ilişki 1051
Şekil-31: Deneysel nefrotik sendrom oluşturulan ratlarda glomerüler, tübüler ve interstisyel hasar skoru ile serum albümin arasındaki ilişki. 106
Şekil-32: Regresyon analizine göre, glomerüler hasar skorları ile serum albümin seviyeleri ve serum albümin seviyeleri ile kaspase-12 arasındaki ilişki 1098
Şekil-33: Deney gruplarındaki patolojik preparatlarda elde edilen glomerul hasar skorlarının karşılaştırılması 111
Şekil-34: Deney gruplarındaki patolojik preparatlarda elde edilen tübüler hasar skorlarının karşılaştırılması. 112
Şekil-35: Deney gruplarındaki patolojik preparatlarda elde edilen interstisyum hasar skorlarının karşılaştırılması. 113
Şekil-36: Grup 1 (adriamisin), Grup 2 (resveratrol) Grup 3 (metformin), Grup 4 (kontrol) için patolojik inceleme 115

Ek 3-Tablo Dizini

Tablo-1: Nefrotik sendromun etyolojisi ve sınıflandırılması..... 7
Tablo-2: Nefrotik sendrom histolojik sınıflama..... 8
Tablo-3: Normal ve nefrotik proteinüri..... 20
Tablo-4: Farmakoterapi dozlaması ve klinik etkileri. 24
Tablo-5: NUP-93 mutasyonları ve hastalıkları..... 37
Tablo-6: NUP107 mutasyonları ve hastalıkları. 40
Tablo-7: Çalışma gruplarının biyokimya sonuçları 84
Tablo-8: Böbrek dokusu NUP 107, NUP 93 yüzdelik düzeyleri..... 87
Tablo-9: Böbrek dokusu Kaspaz 12, Kaspaz 3 yüzdelik düzeyleri 90
Tablo-10: Böbrek dokusu ATF 6, IRE 1 yüzdelik düzeyleri 92
Tablo-11: Serum albümin, total kolesterol, trigliserid ve glomerüler, tübüler ve interstisyel hasar skorları üzerindeki regresyon analizi sonuçları**.....** 107
Tablo-12: Deneysel nefrotik sendrom oluşturulan sıçanlarda ölçülen / skorlanan parametreler arasındaki korelasyonlar. 110