



NEFROTİK SENDROMLU ÇOCUKLARDA MDR-1 GENİ mRNA EKSPRESYONUNUN TEDAVİYE CEVABIN BELİRLENMESİNDE ROLÜ

Özgü Hançerli*, Aslıhan Kara*, Metin Kaya Gürgöze*, Murat Kara**
Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı
Çocuk Nefroloji Bilim Dalı, **Genetik Bilim Dalı, Elazığ

GİRİŞ:

- Nefrotik sendrom, yoğun proteinüri, hipoalbuminemi, hiperlipidemi ve ödemin görüldüğü çocukluk çağının kronik bir hastalığıdır
- Steroid yanıtı hastalığın prognozunu belirlemede en önemli göstergelerden birisidir

- Steroid direnci son yıllarda genellikle podosit proteinlerindeki mutasyonların glomerüler bazal membranda yapısal değişikliklere neden olması ile açıklanmaya çalışılmaktadır
- Ancak aynı podosit mutasyonu taşıyan farklı bireylerde steroid cevabın farklı olduğu görülmektedir
- Podosit mutasyonu taşıyan bir NS olgusu steroide yanıt verirken aynı mutasyonu taşıyan diğer kişiler steroid dirençli olabilmektedir
- Bu nedenle steroid direncinde, ilaçların bireyler arasındaki farklı yanıtlarının da etkili olabileceği düşünülmektedir

- Özellikle ilaç taşıyıcı enzimler ve ilacın eliminasyonu ile ilgili farklılıklarda, genetik polimorfizmlerin etkili olduğu bildirilmektedir
- Taşıyıcı enzimlerden P-glikoprotein (p-gp) ve steroid metabolizmasından sorumlu enzimlerden olan Sitokrom P450 ilaç duyarlılığında göz önünde bulundurulması gereken faktörlerdir
- Bu genlerin yönlendirdiği proteinlerin biyoaktiviteleri steroid farmakokinetiğindeki bireysel farklılığı ve dolayısıyla steroid direncini açıklayabilir

- P-gp'nin yüksek ekspresyonu, prednisolonun hücre stoplazmasından ekskrete eden pompa fonksiyonu göstermesiyle glikokortikoid resistansını oluşturur
- MDR-1 geni mRNA ölçümünün p-gp ölçümüne göre daha duyarlı olduğu bildirilmektedir

AMAÇ:

- Çalışmamızda nefrotik sendromlu çocuklarda ilaç eliminasyonundan sorumlu MDR-1 geni mRNA ekspresyonunun steroid tedavisine cevabın belirlenmesinde etkili bir faktör olup olmadığını belirlemeyi amaçladık

GEREÇ VE YÖNTEM:

- Çalışmaya Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Nefroloji polikliniği tarafından nefrotik sendrom tanısı ile izlenen 40 hasta ve kontrol grubu olarak 22 sağlam çocuk dahil edildi
- Hastaların demografik verileri, klinik durumları, laboratuvar değerleri ve kullanılmış olan tedaviye ait bilgiler kaydedildi

- Tüm olgularımızda tanı sırasında, steroide duyarlı olan hastalarda ise ilaveten tedavinin 4. haftasında ve tedavi bitiminde MDR-1 geni mRNA düzeyleri bakıldı

BULGULAR:

Olguların Demografik Özellikleri

	Nefrotik Sendrom n=40	Kontrol n=22	P değeri
Yaş (yıl)	7,23±4,13*	7,14±4,64*	>0,05
Cinsiyet (kız/erkek)	10/30	9/13	>0,05

* Değerler ortalama±SD verilmiştir.

Steroid tedavisine yanıtına göre olguların demografik verileri

	Steroid dirençli n=11	Steroid duyarlı n=29	P değeri
Yaş (yıl)	6,45±5,59*	7,52±3,51*	>0.05
Cinsiyet (kız/Erkek)	2/9	8/21	>0.05
Vücut ağırlığı (kg)	21.16±12,04*	28,04±11,53*	>0.05
Boy (cm)	98,86±33,40 *	123,20±18,25*	<0.05

* Değerler ortalama±SD verilmiştir.

Steroid tedavisine yanıtına göre olguların ailede NS öyküsü

	Steroid dirençli n=11	Steroid duyarlı n=29	P değeri
Ailede NS öyküsü (var/yok)	1/10	2/27	>0.05

Nefrotik Sendrom hastalarının laboratuvar bulguları

	Steroide duyarlı	Steroide dirençli	P değeri
	n=29	n=11	
Beyaz küre (K/uL)	10.623,10±4.330,91*	13.590,90±7.180,46*	>0.05
Hemoglobin (g/dL)	13,7±1,58*	21,21±33,28*	>0.05
Trombosit (/mm ³)	464.448,28±110.024,21*	424.636,36±201.445,41*	>0.05
Serum üre (mg/dL)	27,03±12,37*	38,09 ±22,43*	>0,05
Serum kreatin (mg/dL)	0,34±0,18*	0,58 ±0,73*	<0,05
Total protein (g/dL)	4,32±0,65*	3,99±0,78*	>0.05
Albümin (g/dL)	2,11±0,35*	2,05±0,39*	>0.05
Total kolesterol (mg/dL)	388,64±133,05*	322,20±85,38*	>0.05
Trigliserit (mg/dL)	275,67±163,84*	324,50±158,00*	>0.05
İdrar Prot/kreatin (mg/dL)	8,21±5,56*	9,44±5,62*	>0.05
Proteinüri (mg/kg/gün)	132,70±100,92*	91,60±73,39*	>0.05
Hematüri (var/yok)	5/24	5/6	<0,05

* Değerler ortalama±SD verilmiştir.

- **Böbrek biyopsisi** yapılan 19 hastanın
 - 10'unda (%52,6) FSGS,
 - 5'inde (%26) MLH,
 - 4'ünde (%21) MezPGN,
 - birinde (%5,2) konjenital NS (Deny Drash Sendromu) saptanmıştı
 - FSGS bulunan 10 hastanın 7'si, MezPGN olan üç hasta ve konjenital NS olan hasta dirençli gruptandı

Steroid tedavisine yanıtına göre MDR-1 polimorfizmi

	Steroid dirençli n=11	Steroid duyarlı n=29	P değeri
MDR-1 polimorfizmi (var/yok)	5/0	12/2	>0.05

- **MDR-1 için:**
 - C3435T (rs1045642),
 - C1236T (rs1128503),
 - G2677A (rs2032582),
 - G199A (rs2229109),
 - A61T (rs9282564) polimorfizmleri bakıldı.

Olguların tanı anında mRNA düzeyi

	Nefrotik Sendrom n=40	Kontrol n=22	P değeri
Tanı anında mRNA düzeyi (kopya/ μ gr RNA)	3,03 \pm 4,23 *	4,78 \pm 2,54*	>0.05

* Değerler ortalama \pm SD verilmiştir.

Steroid tedavisine yanıtına göre olguların tanı anında mRNA düzeyi

	Steroid dirençli n=11	Steroid duyarlı n=29	P değeri
Tanı anında mRNA düzeyi (kopya/ μ gr RNA)	2,27 \pm 4,86*	3,15 \pm 4,05*	>0.05

* Değerler ortalama \pm SD verilmiştir.

Steroid duyarlı NS (SSNS) ve steroid dirençli NS (SRNS) gruplar arasında tanı anında mRNA düzeyleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).

Steroid duyarlı hastaların tedavi ile mRNA düzeylerindeki değişim

	Steroide duyarlı n=40	P değeri
Tanı anında mRNA (kopya/ μ gr RNA)	3,65 \pm 3,79*	>0.05
Tedavinin dördüncü haftası mRNA (kopya/ μ gr RNA)	3,15 \pm 4,46*	
Tedavi sonunda mRNA (kopya/ μ gr RNA)	2,97 \pm 3,01*	

* Değerler ortalama \pm SD verilmiştir.

- *Steroid kullanan SSNS hastaların mRNA düzeyleri tedavi ile giderek azalmasına rağmen aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p>0.05$).*

TARTIŞMA:

- ***Çalışmamız sonucunda***
 - NS'un erkeklerde daha sık görüldüğü (E/K=3/1),
 - Serum kreatin değerinin dirençli olgularda daha yüksek olduğu
 - Hematüri görülme oranının dirençli olgularda daha yüksek olduğu
 - Steroid dirençli hastalarımızın böbrek biyopsilerinde en sık histopatolojik tanı FSGS
 - Her iki grup arasında MDR-1 polimorfizmleri arasında fark yoktu

- Çalışmanın sonucunda steroid tedavisinde direnç gelişmesinde katkısı olduğu düşünülen p-gp'i kodlayan MDR-1 geni mRNA düzeyi hem sağlıklı kontrol grubunda hem de SRNS ve SSNS grubunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi
- Ancak MDR-1 geni mRNA ekspresyonu ile birlikte p-glikoprotein düzeyinin aynı anda bakılmaması çalışmanın bir eksikliğidir

- Chiou ve ark. yaptıkları çalışmada 58'i steroide duyarlı, 16'sı dirençli 74 İNS'li çocuğu değerlendirmişler, *çalışmamızda olduğu gibi* MDR-1 G2677T/A, C3435T, CYP3A5 ve A6986G polimorfizmlerinde iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmamışlar ancak MDR-1 C1236T (rs1128503) polimorfizmini İNS'li çocuklarda steroid rezistansı ile ilişkilendirmişlerdir ($p<0,05$)

Chiou YH, Wang LY, Wang TH, Huang S. Genetic polymorphisms influence the steroid treatment of children with idiopathic nephrotic syndrome. Pediatr Nephrol. 2012; 27: 1511–1517

- 40 NS'li hasta ve 20 sağlıklı kontrol grubunun dahil edildiği bir çalışmada;
- kontrol gurubuna göre tanı sırasında ve remisyonda IL2 ve MDR–1 gene ekspresyonunun artmış olduğu hatta tanı anında remisyona göre anlamlı yüksek olduğu tesbit edilmiş
- *Çalışmamızda ise her 2 grup arasında anlamlı fark bulunamamıştır*

Youssef DM, Elbehidy RM, Abdelhalim HS, Amr GE. Soluble interleukine-2 receptor and MDR-1 gene expression levels as inflammatory biomarkers for prediction of steroid response in children with nephrotic syndrome. Iran J Kidney Dis 2011; 5: 154–161

- 18 NS'li çocuğun dahil edildiği bir çalışmada, steroid tedavisi almadan, tedavinin 3-4. haftasında, tedavi bitiminden iki ay sonrasında ve 18 sağlıklı kontrol grubunda CD3 lenfositlerde flow sitometriyle p-gp düzeyleri değerlendirilmiştir
- NS'li grupta atakta kontrol grubuna göre p-gp düzeyleri anlamlı yüksek iken remisyonda azaldığı ancak kontrol grubundaki düzeye kadar düşmediği bulunmuştur
- *Çalışmamızda daha duyarlı olan PCR yöntemi ile llen MDR–1 ekspresyonu düzeylerinin tedavi başında kontrol grubuna benzer bulunan değerlerin tedavinin 4. haftasında ve tedavi sonunda giderek azaldığı ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü*

Wasilewska A, Zoch-Zwierz W, Pietruczuk M. Expression of P-glycoprotein in lymphocytes of children with nephrotic syndrome treated with glucocorticoids. Eur J Pediatr 2006; 165: 839-844.

- Funaki ve ark'nın yapmış olduğu benzer bir çalışmada ise *alışmamıza benzer* şekilde ilk atak sırasında mRNA düzeylerinin remisyondan yüksek olduğu bulunmuştur
- *Yine MDR–1 mRNA ekspresyonunun NS'li hastalarda çalışmamızda olduğu gibi kontrol grubuna benzer değerlerde olduğu gösterilmiştir*

Funaki S, Takahashi S, Wada N, Murakami H, Harada K. Multiple drug-resistant gene 1 in children with steroid-sensitive nephrotic syndrome. Pediatr Int 2008; 50: 159–161.

- Sonuç olarak, nefrotik sendrom tedavisinde steroid direncinin gelişmesinde ilaç eliminasyonundan sorumlu gen MDR-1 mRNA ekspresyonunun etkili olmadığı belirlendi
- İlaç eliminasyonunda görevli genlerdeki polimorfizmlerin klinik önemini belirleyebilmek için hem çok sayıda olguda yapılması hem de aynı dönemde sorumlu genlerin ürettiği proteinlerin serum düzeylerine bakılması daha yararlı olacaktır

Dinlediğiniz için teŖekkürler...

