

T.C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ BİYOKİMYA

ANABİLİM DALI

**PİYELONEFRİT GEÇİREN ÇOCUKLARDA RENAL SKAR
GELİŞİMİNİN GÖSTERGESİ OLARAK PLAZMA VE İDRAR
NÖTROFİL JELATİNAZ İLİŞKİLİ LİPOKALİN (NGAL)
DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. YASİN KENESARI

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ

DOÇ.DR. EMEL ALTEKİN

İZMİR-2013

Bu araştırma DEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 2011.KB.SAG.36 sayılı desteği ile gerçekleştirilmiştir.

İÇİNDEKİLER

Sayfa no

İçindekiler	i
Tablo Listesi.....	v
Şekil Listesi.....	vii
Kısaltmalar.....	ix
Teşekkür.....	xi
Özet.....	1
Abstract.....	2

BİRİNCİ BÖLÜM

<u>1. GİRİŞ</u>	<u>3</u>
-----------------------	----------

İKİNCİ BÖLÜM

<u>2. GENEL BİLGİLER.....</u>	<u>4</u>
2.1.İDRAR YOLU ENFEKSİYONLARI.....	4
2.1.1.Epidemiyoloji.....	4
2.1.2.Patogenez.....	5
2.1.3.Akut Piyelonefrit ve Skarla İlişkisi.....	6
2.1.4.Renal Parankimal Skar Gelişimine Vezikoüreteral Reflünün Etkisi.....	8

2.1.5. Renal Parankimal Skar Gelişimine Hasta Yaşının Etkisi.....	9
2.1.6. Renal Parankimal Skar Gelişimine Üropatojenik Bakterilerin Etkisi.....	9
2.1.7. Renal Parankimal Skar Gelişimine Nötrofillerin Etkisi.....	11
2.2. LİPOKALİNLER.....	11
2.2.1. Nötrofil Jelatinaz İlişkili Lipokalin.....	12
2.2.1.1. Nötrofil Jelatinaz İlişkili Lipokalin ve Böbrek Hasarı ile İlişkisi.....	14
2.3. RENAL SKAR VE FİBROZİS BELİRLEYİCİLERİ.....	15
2.3.1. Matriks Metalloproteinazlar.....	15
2.3.2. Metalloproteinazların Spesifik Doku İnhibitörleri (TIMP'LER).....	19
2.3.2.1. Metalloproteinaz Doku İnhibitörü Tip-1 (TIMP-1)	19
2.3.3. TIMP-1 ve MMP İnhibisyonu.....	20
2.4. PİYELONEFRİTE TANISAL YAKLAŞIM.....	20
2.4.1. Dimerkaptosüksinik Asit Sintigrafisi.....	20
2.4.2. Voiding Sistoüretrografi (VCUG).....	21

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
3.1. Olgu Seçimi.....	22
3.2. Biyokimyasal Analizler.....	22
3.2.1. Plazma NGAL Çalışma Prosedürü.....	22

3.2.2.İdrar NGAL Çalışma Prosedürü.....	23
3.2.3.İdrar TIMP-1 Çalışma Prosedürü.....	24
3.2.4.İdrar MMP-9 Çalışma Prosedürü.....	25
3.2.5. İdrar kreatinin Çalışma Prosedürü.....	27
3.3.İSTATİSTİKSEL ANALİZLER.....	27

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

4.BULGULAR.....	29
4.1.BİYOKİMYASAL VERİLERİN ANALİZİ.....	30
4.1.1.Plazma ve İdrar NGAL düzeyi.....	30
4.1.2.İdrar TIMP-1 ve MMP-9 düzeyi.....	31
4.1.3.Spot idrar kreatinin düzeyi ve kreatinin klirensi.....	33
4.1.4.İdrar NGAL/ Kreatinin oranları.....	34
4.1.5.İdrar TIMP-1/Kreatinin oranları.....	35
4.1.6. İdrar MMP-9/Kreatinin oranları.....	35
4.1.7.İdrar MMP-9/İdrar TIMP-1 oranları.....	36
4.2.Vezikoüreteral reflü varlığının çalışılan parametreler üzerine etkisi.....	37
4.2.1.Renal skar(-) olan hastalar.....	37
4.2.2. Renal skar(+) olan hastalar.....	37

4.3.KORELASYON ANALİZLERİ.....	38
--------------------------------	----

BEŞİNCİ BÖLÜM

5.TARTIŞMA.....	39
-----------------	----

ALTINCI BÖLÜM

6.KAYNAKLAR.....	44
------------------	----

6.1.EKLER.....	53
----------------	----

TABLO LİSTESİ

Sayfa no

Tablo 1: Üriner sistemde enfeksiyon yapan mikroorganizmalar.....	5
Tablo 2: Matriks Metalloproteinaz enzimlerinin subsrat özgüllüğüne göre sınıflandırılması.....	16
Tablo 3: Gruplara göre cinsiyet dağılımı.....	29
Tablo 4: Gruplara göre yaş verileri.....	29
Tablo 5: Vezikoüreteral reflünün gruplara göre dağılımları.....	29
Tablo 6: Grup 1 (renal skarı [-]) ve Grup 2'de (renal skarı [+]) plazma NGAL düzeyleri.....	30
Tablo 7: Grup 1 (renal skarı [-]) ve Grup 2'de (renal skarı [+]) idrar NGAL düzeyleri.....	30
Tablo 8: Grup 2 (renal skarı olan) grupta cinsiyete göre idrar NGAL düzeyleri.	31
Tablo 9: Grup 1 (renal skarı [-]) ve Grup 2'de (renal skarı [+]) idrar TIMP-1 düzeyleri.....	31
Tablo 10: Grup 1 (renal skarı [-]) ve Grup 2'de (renal skarı [+]) idrar MMP-9 düzeyleri.....	32
Tablo 11: Grup 1 (renal skarı [-]) ve Grup 2'de (renal skarı [+]) spot idrar kreatinin düzeyleri.....	33

Tablo 12: Grup 1 (renal skarı [-]) ve Grup 2’de (renal skarı [+]) kreatinin klirensleri.....	33
Tablo 13: Grup 1 (renal skarı [-]) ve Grup 2’de (renal skarı [+]) idrar NGAL/Kreatinin oranları.....	34
Tablo 14: Grup 1 (renal skarı [-]) ve Grup 2’de (renal skarı [+]) idrar TIMP-1/Kreatinin oranları.....	35
Tablo 15: Grup 1 (renal skarı [-]) ve Grup 2’de (renal skarı [+]) idrar MMP-9/Kreatinin oranları.....	36
Tablo 16: Grup 1 (renal skarı [-]) ve Grup 2’de (renal skarı [+]) idrar MMP-9/idrar TIMP-1 oranları.....	36
Tablo 17: Grup 1 (renal skarı olmayanlar) VÜR(-) ve (+) hastaların karşılaştırılması.....	37
Tablo 18: Grup 2 (renal skarı olanlar) VÜR(-) ve (+) hastaların karşılaştırılması.....	38
Tablo 19: Grup 2 (renal skarı olanlar) hastalarda biyokimyasal parametrelerin birbirleri ile korelasyonları.....	38

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa no

Şekil 1: Üriner sistem enfeksiyonları.....	4
Şekil 2: İdrar yolu enfeksiyonlarına neden olan faktörler.....	6
Şekil 3: Akut piyelonefrit sonrası renal skara neden olan patofizyolojik olaylar.....	7
Şekil 4: Vezikoüreteral reflü evreleri.....	9
Şekil 5: Piyelonefrit sırasındaki konak yanıtı ve sonrasında gelişen renal skar.....	10
Şekil 6: Lipokalinlerin genel yapısı.....	12
Şekil 7: Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin(NGAL)'in üç boyutlu görünümü..	12
Şekil 8: NGAL ile Siderofor ilişkisi.....	13
Şekil 9: NGAL ve komplekslerinin çeşitli fonksiyonları.....	13
Şekil 10: Akut böbrek hasarında biyobelirteçlerin pik zamanları.....	15
Şekil 11: Matriks metalloproteinazların düzenlenmesi.....	17
Şekil 12: TIMP-1'in yapısı.....	20
Şekil 13: Piyelonefritli bir hastanın Tc-99 DMSA sintigrafisi.....	21
Şekil 14: Voiding sistoüretrografi (VCUG) görüntüsü.....	21
Şekil 15: Gruplar arası plazma NGAL düzeylerinin karşılaştırılması.....	30
Şekil 16: Gruplar arası idrar NGAL düzeylerinin karşılaştırılması.....	31
Şekil 17: Gruplar arası idrar TIMP-1 düzeylerinin karşılaştırılması.....	32

Şekil 18: Gruplar arası idrar MMP-9 düzeylerinin karşılaştırılması.....	32
Şekil 19: Gruplar arası idrar kreatinin düzeylerinin karşılaştırılması.....	33
Şekil 20: Gruplar arası kreatinin klirenslerinin karşılaştırılması.....	34
Şekil 21: Gruplar arası idrar NGAL/ Kreatinin oranlarının karşılaştırılması...	34
Şekil 22: Gruplar arası idrar TIMP-1/ Kreatinin oranlarının karşılaştırılması..	35
Şekil 23: Gruplar arası idrar MMP-9/ Kreatinin oranlarının karşılaştırılması..	36
Şekil 24:Gruplar arası idrar MMP-9/ idrar TIMP-1 oranlarının karşılaştırılması.....	37

KISALTMALAR

İYE: İdrar yolu enfeksiyonu

APN: Akut piyelonefrit

NGAL: Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin

MMP: Matriks metalloproteinaz

TIMP: Metalloproteinaz doku inhibitörü

VÜR: Vezikoüreteral reflü

Tc 99m-DMSA: Teknesyum-99 Dimerkaprosüksinik asit

VCUG: Voiding sistoüretrografi

ELİSA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

NAG: N-asetil galaktozamin

spp: Species plural possessive

E. coli : Escherichia coli

S. albus: Staphylococcus albus

ACEİ: Anjiotensin konverting enzim inhibitörleri

GFR: Glomerüler filtrasyon hızı

NSAİİ: Non steroid antiinflamatuvar ilaç

Hly A: Alfa hemolizin

USG: Ultrasound görüntüleme

EÇH: Eritrosit çökme hızı

ECM: Ekstra sellüler matriks

LPS: Lipopolisakkarit

İL-8: İnterlökin-8

İL-1: İnterlökin-1

TLR-4: Toll-like reseptör

ICAM-1: Hücre içi adezyom molekülü-1

KOAH: Kronik obsrüktif akciğer hastalığı

RLU: Relatif ışıık üniteleri

FGF: Fibroblast growth faktör

PDGF: Platelet derive growth faktör

TNF- α : Tümör nekroz faktör – α

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilimsel birikimlerini ve manevi desteklerini esirgemeyen, uzmanlık eğitimimde emeği geçen başta Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Canan ÇOKER, Prof. Dr. Banu ÖNVURAL ve Biyokimya Anabilim Dalı değerli öğretim üyelerine;

Tez çalışmamın en başından sonuna kadar her aşamasında bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, bilimsel birikimleriyle bana her konuda destek olan tez danışmanım değerli hocam Doç. Dr. Emel ALTEKİN'e;

Uzmanlık eğitimim boyunca eşsiz deneyim ve bilgilerinden yararlandığım değerli hocalarım Prof. Dr. Sezer UYSAL, Doç. Dr. Ali Rıza ŞİŞMAN ve Yrd. Doç. Dr. Tuncay KÜME 'ye;

Tez hastalarımın toplanması konusunda gösterdiği ilgi ve hassasiyetle bana destek olan, engin görüş ve önerilerinden yararlandığım Pediatrik Nefroloji Bilim Dalı öğretim üyesi değerli hocam Prof. Dr. Alper SOYLU'ya;

Uzmanlık eğitimim boyunca arkadaşlık ve dostluklarını esirgemeyen asistan arkadaşlarım Dr. Deniz KOÇER KALKANDELEN, Dr. Banu DEVECİ, Dr. Emre DEMİRAY, Dr. Ali YILDIRIM, Dr. Ayşegül KESER, Dr. Burcu ÇINKOOĞLU, Dr. Ferhat DEMİRCİ ve Dr. Barış SAĞLAM'a;

Uzmanlık eğitimimiz boyunca tüm işlerimizi kolaylaştıran anabilim dalı sekreterimiz Sayın Eda OLUM'a;

Beni bugünlere getiren sevgili annem ve babama;

Hayatımın her anında fikriyle, sevgisiyle ve anlayışla bana destek olan değerli eşim Dr. Ceren KENESARI ve hayatımın anlamı canım oğlum KUZHEY'e en içten dileklerle teşekkür ederim.

ÖZET

Piyelonefrit renal skara ve bununla ilişkili komplikasyonlara (hipertansiyon, son dönem böbrek yetmezliği gibi) yol açabilir. Renal skarın gösterilmesinde altın standart Tc-99 DMSA sintigrafisidir. Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (NGAL) akut ve kronik böbrek hasarının varlığını göstermede son yıllarda giderek önem kazanan bir biyobelirteçtir. Bu çalışmada, piyelonefrit öyküsü olan çocuklarda renal skar varlığının göstergesi olarak idrar ve plazma NGAL düzeyleri incelenmiştir. Bu parametrenin yanı sıra fibrozis belirleyicisi olarak MMP-9 ve TIMP-1 in NGAL ile ilişkisi de araştırılmıştır.

Çalışmaya DEÜ Çocuk Nefroloji Polikliniği'ne başvuran ve en az 6 ay önce piyelonefrit atağı geçiren hastalar alındı. Hastalar DMSA sintigrafisi sonuçlarına göre renal skar (-) (Grup 1) ve renal skar (+) (Grup 2) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Her grup vezikoüreteral reflü (VÜR) varlığı açısından da kendi içinde VÜR (-) ve VÜR (+) olarak gruplandı. Plazma NGAL düzeyleri Biosite Triage prometer cihazı kullanılarak floresans immün ölçüm yöntemi ile ölçüldü. İdrar NGAL düzeyleri Architect Abbott C 16200 otoanalizöründe kemilüminesans immün ölçüm yöntemi ile ölçüldü. İdrar ve plazma NGAL testlerine ek olarak renal skar ve fibrozis göstergesi olarak idrar matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) (Boster ELİSA kiti) ve metalloproteinaz doku inhibitörü tip 1 (TIMP-1) (İnvitrogen ELİSA kiti) düzeyleri de ölçüldü. Grup 1 ve 2 plazma ve idrar NGAL, idrar MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri bakımından karşılaştırıldı. Aynı karşılaştırmalar her iki grup içinde VÜR (-) ve VÜR (+) olanlar arasında da yapıldı. Ayrıca çalışılan dört parametre arasında korelasyon varlığı da araştırıldı.

Piyelonefrit sonrası renal skar gelişen ve gelişmeyen gruplar arasında idrar ve plazma NGAL yanı sıra MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri açısından da fark saptanamadı.

Sonuç olarak piyelonefrit geçiren çocuklarda renal skar varlığının göstergesi olarak NGAL 'ın uygun bir parametre olmadığını düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin, akut piyelonefrit, renal skar, vezikoüreteral reflü, matriks metalloproteinaz-9, doku metalloproteinaz inhibitörü tip-1.

ABSTRACT

Pyelonephritis can cause renal scarring and its associated complications (hypertension, end-stage renal failure). Tc-99m DMSA renal scintigraphy is the gold standard for demonstrating scarring. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is an increasingly important biomarker in predicting the presence of acute and chronic kidney damage in recent years. In this study, urinary and plasma NGAL levels were examined as an indicator of the presence of renal scarring in children with a history of pyelonephritis. We also studied the presence of correlation between the four parameters which were investigated.

The children who attended DEU Pediatric Nephrology outpatient clinic and had an attack of pyelonephritis before at least six months were taken to the study. According to the results of DMSA scintigraphy, patients were divided into two groups with renal scarring (-) (Group 1) and renal scarring (+) (Group 2). After that each group were classified as VUR(-) and VUR (+) in terms of presence of vesicoureteral reflux (VUR). NGAL levels in plasma were measured by measuring the immune fluorescence, using the device Biosite Triage Prometer. Urinary NGAL levels were measured by the method of immune chemiluminescence by Architect Abbott C 16200 autoanalyzer. In addition to urine and plasma NGAL tests, urine MMP-9 (Boster ELISA kit) and TIMP-1 (Invitrogen ELISA kit) levels were also evaluated as a sign of renal scarring or fibrosis. Groups 1 and 2 were compared in terms of plasma and urinary NGAL, MMP-9 and TIMP-1 levels. In both groups, the comparisons also done among the vesicoureteral reflux (-) and vesicoureteral reflux (+) groups.

Between the cases of scar (-) and scar (+) there was no significant difference in terms of all parameters.

As a result we think that NGAL is not a appropriate parameter as an indicator of the presence of renal scarring in children with a history of pyelonephritis.

Keywords: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin, acute pyelonephritis, renal scarring, vesicoureteral reflux, matrix metalloproteinase-9, tissue metalloproteinase inhibitor type-1.

BİRİNCİ BÖLÜM

1.GİRİŞ

Akut piyelonefrit böbrek pelvisi ve parankiminin enfeksiyonudur. Çocukluk çağında oldukça sık görülür ve bu dönemde erken tanı ile uygun tedavi edilmezse, kalıcı hasar dokusu olan skar oluşumuna neden olabilir. Böbrekte skar oluşumu hipertansiyon, böbrek fonksiyonlarında ilerleyici bozulma ve sonuç olarak böbrek yetmezliği gelişimi şeklinde uzun dönem komplikasyonlar olarak karşımıza çıkabilir.

Renal parankimal skar oluşumunda vezikoüreteral reflü, erken yaş, tedavide gecikme ve tekrarlayan ateşli idrar yolu enfeksiyonları risk faktörleri olarak bilinmektedir. Ancak, halen skar oluşum mekanizmaları net olarak bilinmemekte, genellikle enfeksiyon sırasında salgılanan sitokinlere ve büyüme faktörlerine bağlı olduğu düşünülmektedir¹.

Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (NGAL) akut böbrek hasarının hassas bir göstergesidir ve klasik renal hasar göstergelerinden (serum kreatinin, idrar NAG, β 2-mikroglobulin) önce serum ve idrarda yüksek düzeylere ulaşmaktadır. Renal iskemi, nefrotoksin maruziyeti, renal parankimal hastalıklar, hemolitik üremik sendrom, post-transplant rejeksiyon gibi birçok patolojide NGAL artışı çalışılmıştır. Öte yandan, deneysel ve klinik piyelonefritte de NGAL artışı gösterilmiştir. Ancak, NGAL düzeyleri sadece akut böbrek hasarında değil, kronik böbrek hastalığında ve kronik böbrek hasarının akut kötüleşmesinde de öngörü değerine sahiptir.

Matriks metalloproteinazlar (MMP'ler); ekstrasellüler matriks (ECM) ile bazal membran komponentlerini parçalama yeteneğine sahip olan ve aktif bölgesinde çinko içeren homolog bir enzim ailesidir. Bu enzimler doku yeniden yapılanması, morfogenezis, yara iyileşmesi ve normal gelişimsel süreç gibi fizyolojik durumlarda önemli bir rol oynadıkları gibi tümör hücreleri invazyonu, anjiyogenezis ve metastaz gibi patolojik süreçlerde de yer alırlar. Matriks metalloproteinaz ailesinin önceden tanımlanmış 7 üyesine birçok yeni metalloproteinazların eklenmesi ile bugün 18'den fazla enzim bildirilmektedir. MMP'leri inhibe eden bazı faktörler mevcuttur. Bunlardan metalloproteinazların spesifik doku inhibitörleri (TIMP'ler) in vivo koşullarda bu enzimlerin aktivitesinin regülasyonunda önemli rol oynarlar. MMP ve TIMP arasında bulunan oran çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde değişmekte ve böylece bunlar arasındaki denge değişik patolojik durumların patogenezinde önemli bir rol oynayabilmektedir².

İnflamasyon sırasında ve sonrasında ortaya çıkan doku hasarı ve gelişen renal parankimal hasarla MMP-9 arasında ilişki olduğu gösterilmiş olsa da bu konudaki çalışmalar son derece kısıtlıdır .

Günümüzde akut piyelonefrite bağlı böbrek hasarını gösteren en iyi yöntem 99 Tc-DMSA ile yapılan kortikal sintigrafidir. Ancak invaziv bir girişim olması, radyasyon ve yüksek maliyet gibi olumsuzlukları nedeniyle skar varlığının göstergesi olarak uygulanması daha kolay yeni yöntemler araştırılmaktadır. Bizim çalışmamızda, akut piyelonefrit geçiren çocuklarda NGAL'in skar varlığını göstermedeki tanınal değeri araştırılacaktır. Öte yandan, aynı hasta grubunda idrar MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri de incelenecek ve bu belirteçlerin NGAL ile ilişkisi ilk kez karşılaştırılacaktır.

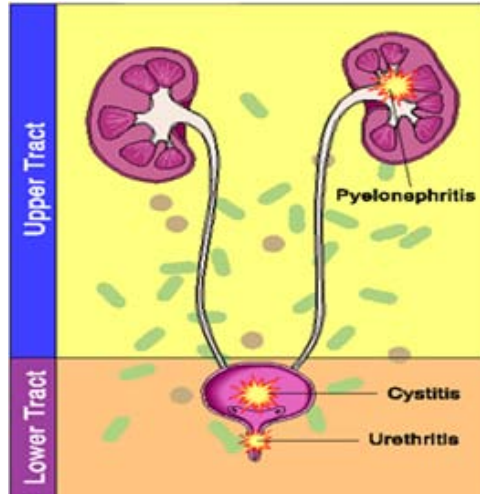
İKİNCİ BÖLÜM

2.GENEL BİLGİLER

2.1.İDRAR YOLU ENFEKSİYONLARI

İdrar yolu enfeksiyonları (İYE) çocukluk çağında üst solunum yolu enfeksiyonlarından sonra en sık karşılaşılan ikinci bakteriyel enfeksiyondur ³. Puberte öncesi dönemde kızların %3-5'i, erkeklerin %1-2'si İYE geçirmektedirler¹. İYE sıklıkla periüretral bölgede kolonize olan bakterilerin asendan olarak üriner sisteme ulaşması ile gelişir. En sık etken tüm yaş gruplarında enterobacteriaceae ailesinden gram negatif enterik bakterilerdir ⁴. Çocuklarda tüm İYE'lerin %80-85'inden Escherichia coli (E. coli) sorumludur ⁵. İYE, çocuklarda fonksiyonel veya yapısal üriner sistem anormalliğinin ilk bulgusu olabilir ⁶. Bu nedenle İYE saptanan çocuklarda bu anormalliklerin araştırılması gereklidir.

İdrar yolu enfeksiyonları karşımıza asemptomatik bakteriüriden akut piyelonefrite kadar değişen klinik bulgularla çıkmaktadır. Etken mikroorganizmanın kolonize olduğu bölgeye göre piyelonefrit, sistit ve üretrit gibi değişik isimler alabilir (Şekil 1).



Şekil 1: Üriner sistem enfeksiyonları (www.emedicinehealty.com)

2.1.1.Epidemiyoloji:

İdrar yolu enfeksiyonlarının sıklığı; yaş, cinsiyet ve kullanılan tanı yöntemlerine bağlı olarak farklılık göstermektedir ^{7,8}. Amerikan Pediatri Akademisine göre iki yaş altı ateşli çocuklardaki sıklığı % 5'in üzerindedir ⁹. İdrar yolu enfeksiyonlarının kız çocuklardaki sıklığı tuvalet alışkanlığının başladığı ortalama 3 yaşta artmaktadır ¹⁰. Erkek çocuklarda ise en sık olarak yaşamın ilk yılında görülmektedir.

Üriner sisteme kolonize olabilen her türlü mikroorganizma idrar yolu enfeksiyonuna yol açabilse de en sık karşılaşılan etkenler gram (-) enterik bakterilerdir. Bu grup içerisinde ilk sırayı E. coli almaktadır (% 80-85) ¹¹. En sık görülen gram (+) etkenler stafilokoklar ve enterokoklardır. Yenidoğan döneminde Klebsiella ve grup B streptokoklar, sünnet olmamış

erkek çocuklarda ve taş hastalığı olanlarda *Proteus*, ergenlik dönemindeki kız çocuklarda *S. Albus* diğer enfeksiyon etkenleri olarak karşımıza çıkmaktadır. Üriner sistemde doğuştan anormallik olanlarda ise *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus spp*, *Staphylococcus aureus/epidermidis*, grup B streptokok etken olarak karşımıza çıkabilmektedir. İdrar yolu enfeksiyonuna neden olabilecek diğer mikroorganizmalar Tablo 1’de gösterilmiştir ¹¹.

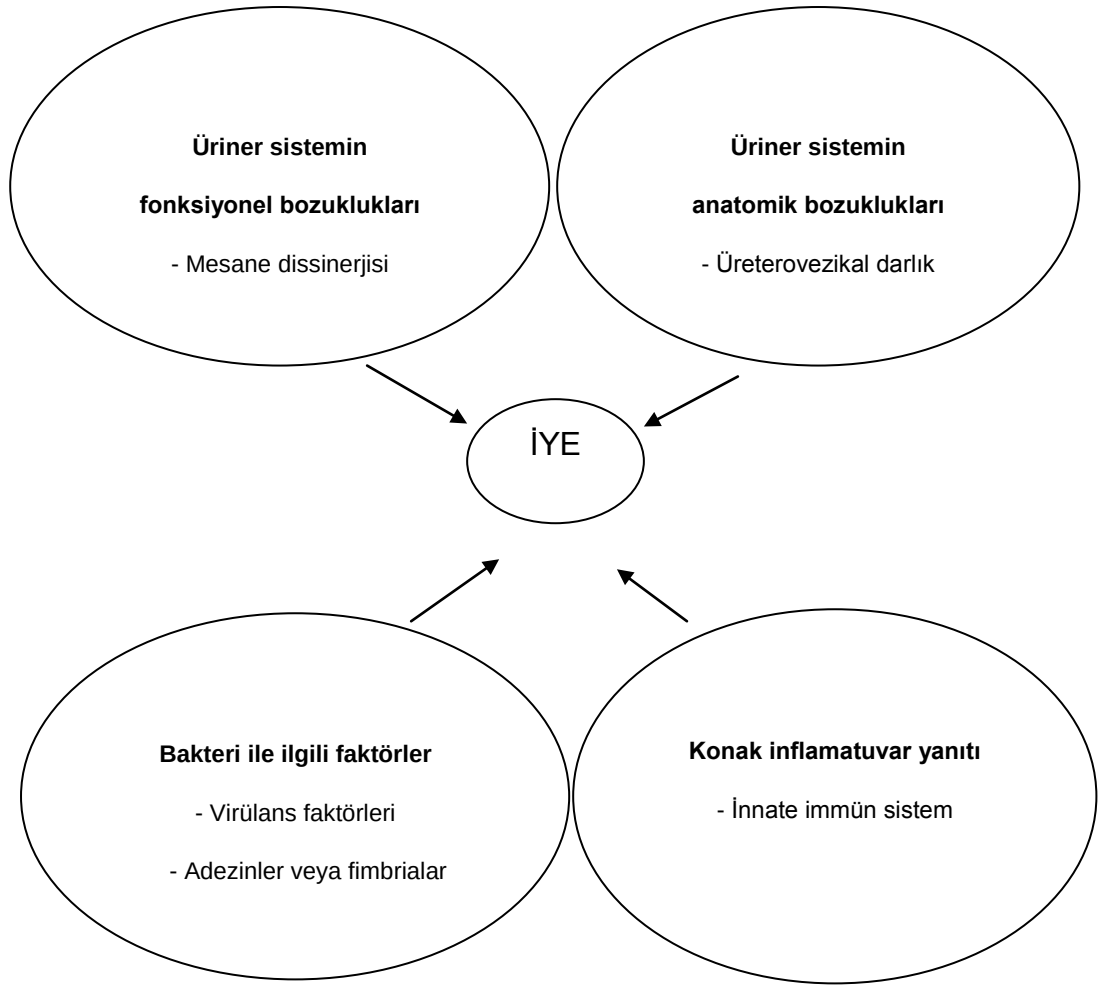
Tablo 1: Üriner sistemde enfeksiyon yapan mikroorganizmalar

Gram (-) basil	Gram (-) kok	Gram (+) kok	Diğer
<i>E. coli</i>	<i>Neisseria gonorrhea</i>	<i>Enterococcus spp</i>	<i>Candida spp</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Grup B <i>Streptococcus</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>
<i>Klebsiella spp</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Adenovirus</i>
<i>Citrobacter spp</i>		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
<i>Enterobacter cloacae</i>		<i>Streptococcus group D</i>	
<i>Morganella morganii</i>		<i>Streptococcus faecalis</i>	
<i>Proteus mirabilis</i>			
<i>Providencia stuartii</i>			
<i>Serratia spp</i>			

Chon et al. Pediatric urinary tract infections. *Pediatr Clin North Am.* 2001; 48: 1443

2.1.2.Patogenez:

İdrar yolu enfeksiyonuna yol açan etkenlerin hemen tamamı perineal bölgeye yerleşmiş olan bakterilerin alt idrar yollarından asendan olarak üst idrar yollarına ulaşması sonucu oluşmaktadır. Bakteriler üretradan mesaneye daha sonra üreterler yoluyla böbreğe ulaşabilmektedir. Vezikoüreteral reflüsü olanlarda ise enfeksiyonun böbreğe ulaşabilme olasılığı artmaktadır. Yenidoğan dönemi dışında bakterinin kan yoluyla yayılarak böbreğe ulaşip enfeksiyona neden olması daha az görülmektedir ¹².

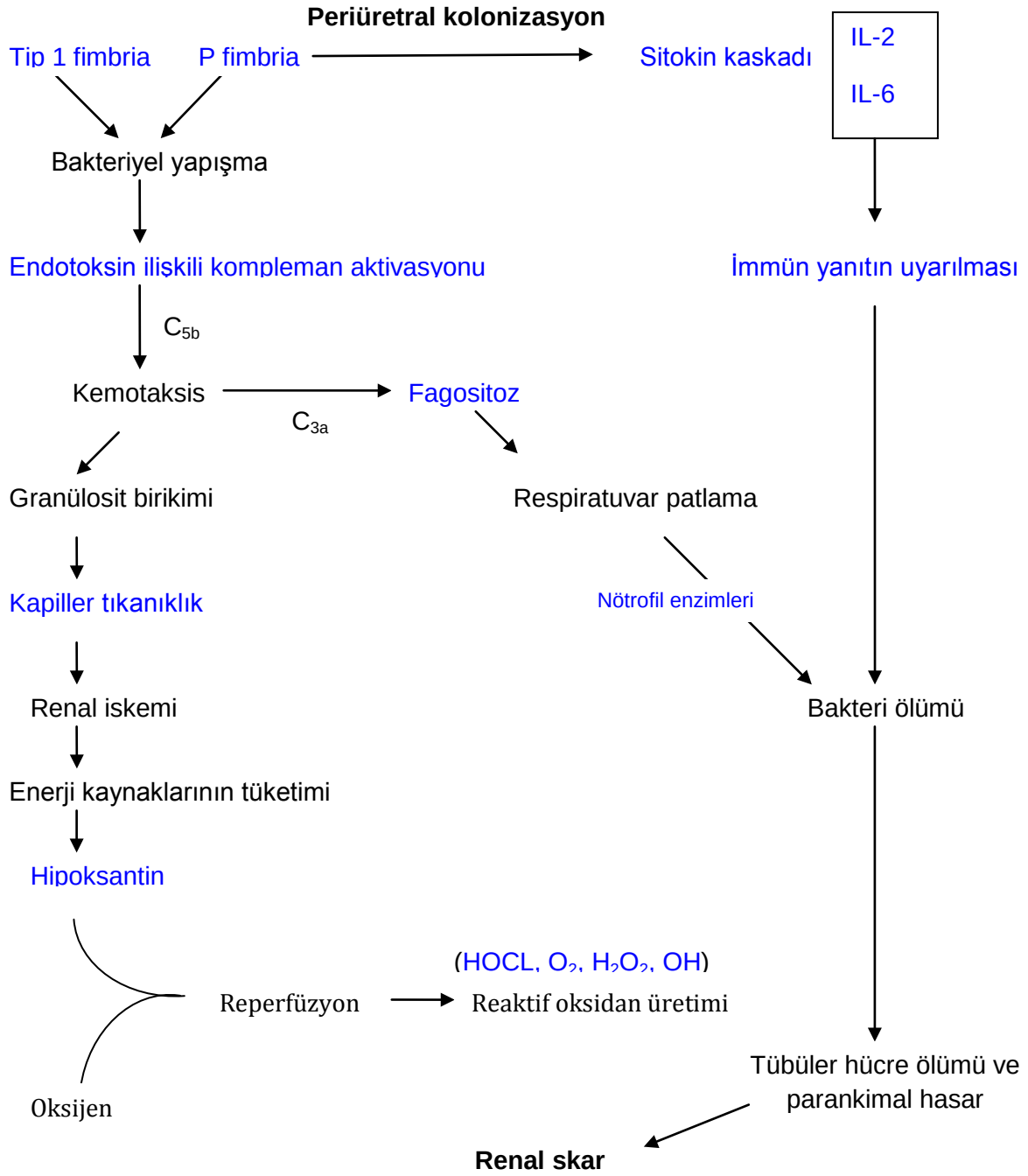


Şekil 2: İdrar yolu enfeksiyonuna neden olabilen faktörler (14)

2.1.3. Akut Piyelonefrit ve Skarla İlişkisi :

Akut piyelonefrit böbrek pelvisini ve parankimini tutan enfeksiyöz ve enflamatuvar bir hastalıktır. Çocukluk çağında oldukça sık görülür. İdrar yolu enfeksiyonunun en ağır şekli olan piyelonefrit sonrası gelişen renal skar dokusu, hipertansiyon ve kronik böbrek yetmezliği gibi önemli komplikasyonlara neden olabilir¹³. Hastalık sonrası gelişebilecek komplikasyonları önleme açısından hastanın yakın takibi, üriner enfeksiyonların kontrolü, komplikasyonların erken tanı ve tedavisi önemlidir.

Piyelonefrit tanısı görüntüleme yöntemlerinden 99Tc- dimerkaptosüksinik asit (DMSA) sintigrafisi ile konulmaktadır. Yapılan çalışmalarda, DMSA ile ateşli İYE geçiren çocuklar incelendiğinde bunların % 50-75'inde akut dönemde böbrek parankim hasarı geliştiği gösterilmiştir^{14,15}. Bu çocukların yaklaşık %20-40'ında ise kalıcı böbrek hasarı gelişmektedir¹⁶. Renal skarın etyolojisi ve patogenezi halen net olarak bilinmemektedir¹⁷. Piyelonefritten sorumlu bakterinin eradikasyonu için konağın verdiği immün ve inflamatuvar yanıtın, erken renal parankimal hasar ve bunu izleyen renal skara neden olduğu düşünülmektedir¹⁰. Renal skar oluşumunda doğuştan bağışıklık sistemi önemli rol oynar. Bu süreçte bakteriyel endotoksinlerin etkisi ile kompleman aktivasyonu, nötrofil kemotaksisi, fagositoz, lizozomal enzim salınımı, iskemi-reperfüzyon hasarı ve reaktif oksijen radikallerinin üretiminin etkileri tanımlanmıştır¹⁸ (Şekil 3).



Şekil 3: Akut piyelonefrit sonrası renal skara neden olan patofizyolojik olaylar (20)

Vezikoüreteral reflü varlığı, ateşli ilk idrar yolu enfeksiyonunu küçük yaşta geçirme, tedaviye başlamanın gecikmesi ve tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonları böbrek hasarını kolaylaştırırken, tedaviye erken başlanması, dikkatli bir radyolojik inceleme ve yakın izlem İYE sonrası gelişen komplikasyonların sıklığını belirgin olarak azaltmaktadır. İdrar yolu enfeksiyonu (İYE) bakterinin üroepitelyuma yapışarak virulans faktörleri ile mukozada inflamasyon yanıtını tetiklemesi ile başlamaktadır. Sitokinler ve kemokinler gibi inflamasyon mediatörlerinin hızlı salınımı bu bölgeye inflamatuvar hücrelerin göçüne, makrofajların aktive olmasına, T lenfositlerin farklılaşmasına, akut faz reaktanlarının üretilmesine ve mesangial hücrelerde proliferasyona yol açmaktadır. Bakteri ile savaş sırasında granülositik enzimler salgılamakta ve oksidatif yanıt ortaya çıkmaktadır. İnflamatuvar yanıt patojenik bakteriye karşı önemli bir savunma mekanizmasıdır fakat bazen bu durum doku fibrozisine yol açarak konak için zararlı hale gelebilmektedir. Bakterinin kendisi de üroepitelyuma direk etki ederek hücre ölümüne yol açabilmektedir ¹⁶.

2.1.4. Renal parankimal skar gelişimine vezikoüreteral reflünün etkisi:

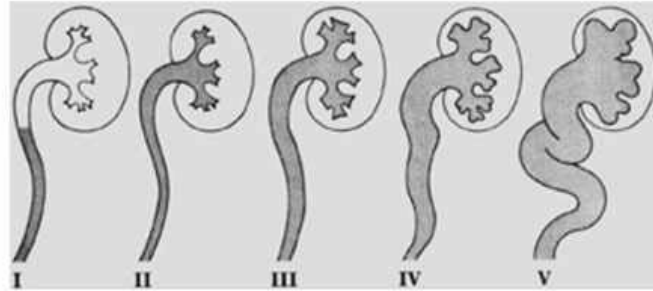
Vezikoüreteral reflü (böbrek reflüsü), çocukluk çağında yineleyen idrar yolu enfeksiyonlarının en önemli nedenlerinden biridir. Tanım olarak idrar kesesinde toplanmış olan idrarın normalin tersine böbreklere geri akmasıdır. Bu geri akış (reflü) böbreklerin hem yüksek basınçlı hem de kirli idrarla temasına neden olarak uzun dönemde böbrek hasarına neden olabilir. Özellikle yüksek dereceli reflünün böbreği hasarlayıcı etkisi olduğundan, erken tanı konulması büyük önem taşımaktadır. Ülkemizde, çocukluk yaş grubunda böbrek nakli gerektiren kronik böbrek hastalığının en önemli nedeni VÜR'dür ¹⁹.

Nedeni idrar kanalının idrar kesesine açıldığı noktanın genetik yapısal bozukluğu olabileceği gibi idrar kesesinin dışarı açıldığı noktadaki anatomik veya fizyolojik bir darlık da idrar kesesinin içinde yüksek basınçla yol açarak ikincil kaçağa neden olabilir. Tüm çocukların sadece %1-2'sinde reflü görülmektedir, fakat piyelonefrit geçiren çocukların %25-40'ında reflü mevcuttur. Doğum öncesi tespit edilmiş hidronefroz olgularının %17-37'sinde eşlik eden reflü mevcuttur. Bu yüksek sıklığı nedeniyle ateşli idrar yolu enfeksiyonu geçiren her çocuğun reflü açısından taranması tavsiye edilmektedir. Tedavi edilmemiş reflü çocukluk çağı yüksek tansiyonun en sık nedenidir ve tedavisiz reflüsü olan çocukların %10 ila 20'sinde böbrek yetmezliği gelişmektedir ²⁰.

Eski yıllarda yapılan çalışmalarda VÜR'ün renal parankimal skar gelişiminde önemli bir risk faktörü olduğu belirtilmekteydi ²¹. Son yıllarda ise son dönem böbrek yetmezliği riskinin VÜR tedavisi ile belirgin olarak azaltılamadığına dair kanıtlar bulunmuş ve bu nedenle renal hasarın sonradan kazanılmayıp intrauterin dönemde var olduğu tezleri öne sürülmüştür ²². Renal hasarın fetal reflüye bağlı geliştiği veya VÜR'ün var olan intrauterin renal hasara bağlı geliştiği varsayımlarına ilişkin sorular halen cevaplanmamıştır ²³. Genel olarak bakıldığında ise VÜR'lü çocuklarda görülen APN'lerde gelişen renal parankimal hasarda VÜR'ün önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. İdrar yolu enfeksiyonu geçirmemiş yüksek dereceli VÜR'ü olan süt çocuklarında daha az skar görülürken daha düşük dereceli VÜR'e sahip olup İYE geçiren süt çocuklarında daha fazla skar görüldüğü gösterilmiştir ²⁴. Yapılan bir çalışmada, kronik böbrek yetmezliği gelişen çocukların % 25.7'sinde VÜR

olduğu, bu tanıyı yaşamlarının ilk 6 ayı içerisinde ve idrar yolu enfeksiyonu geçirdikten sonra aldıkları gösterilmiştir ²⁵.

Ataei ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada VÜR'ü olan çocukların kardeşlerinin, DMSA sintigrafisinde patolojik bulgulara sahip oldukları gösterilmiş ve bu bulguların konjenital displazi veya kazanılmış skar sonucu mu oluştukları tartışılmıştır. Yüksek dereceli reflüye sahip, İYE geçiren ve reflü nefropatisi olan çocuklarda görülen renal hasarın ne kadarının konjenital renal hasar ve/veya reflüye bağlı geliştiği, ne kadarının ise İYE sonucu geliştiğinin belirlenmesinin zor olduğu öne sürülmüştür ²⁶. Sonuç olarak yüksek dereceli vezikoüreteral reflü ve renal parankimal skar arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Renal hasarın ne kadarının konjenital döneme ait hasara bağlı, ne kadarının ise akut piyelonefrit veya vezikoüreteral reflüye bağlı geliştiği ise net olarak ortaya konulmamıştır ^{16,26}.



Şekil 4: Vezikoüreteral reflü evreleri (www.emedicinehealty.com)

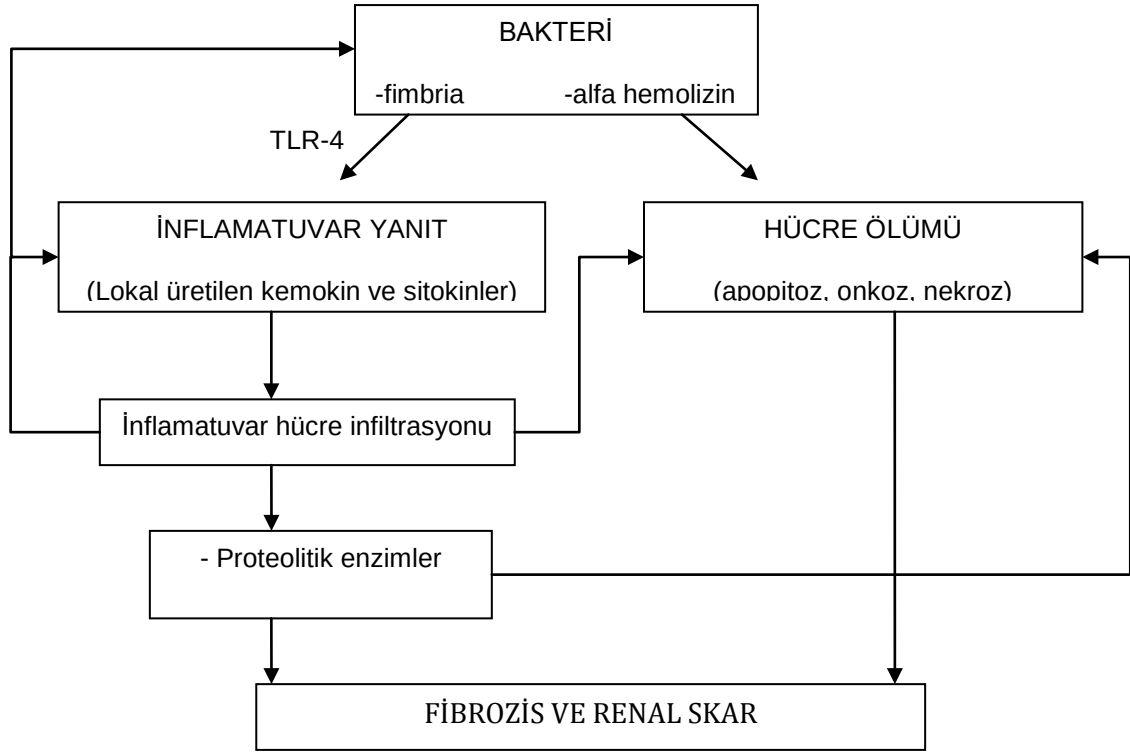
2.1.5. Renal parankimal skar gelişimine hasta yaşının etkisi:

İlk idrar yolu enfeksiyonu geçirme yaşı küçüldükçe enfeksiyon sonrası gelişen renal parankimal skar riski artmaktadır ²⁷. Gelişmekte olan böbreğin renal hasara neden daha yatkın olduğu veya enfeksiyon sonrası gelişen hasara karşı matür böbreği koruyan faktörlerin ne olduğu net değildir. Bu çalışmaların tersine bazı yayınlarda ise yaş ile renal skar arasında bir ilişki olmadığı da öne sürülmüştür ²⁸. Yapılan son çalışmalarda ortaya çıkan inflamasyonun yaştan bağımsız olduğu belirtilmiştir ²⁹.

Süt çocuklarında İYE'nin semptomlarının çok zor anlaşılır olması ve tanı konularak tedavinin başlamasına kadar geçen sürenin uzun olmasının da bunda etkili olduğu ileri sürülmektedir ³⁰.

2.1.6. Renal parankimal skar gelişimine üropatojenik bakterinin doğrudan etkisi :

E. coli idrar yolu enfeksiyonlarının en sık rastlanılan etkenidir. Bakterinin virülans faktörleri inflamasyon yanıtının şiddetini belirlemektedir. Böbrek hücrelerinin etkilenmesi E.colinin fimbriyalar aracılığıyla hücreye yapışması, ardından da bakteriyel toksinlerin (lipopolisakkarit ve hemolizin) salınması ile olmaktadır ^{8,19}. E. coli toksinleri ayrıca üroepitelyum üzerine direk toksik etki etmekte ve programlanmış hücre ölümüne yol açmaktadırlar (Şekil 5) ³¹.



Şekil 5: Piyelonefrit sırasındaki konak yanıtı ve sonrasında gelişen renal skar (33)

Gram negatif bakterilerin sahip oldukları fimbriya veya pililer üroepitelyuma bakterinin yapışmasında önemli role sahiptirler. Virulan E.coli suşlarının %80'inde P fimbriya bulunmakta ve piyelonefrit gelişimine yol açmaktadır. Tip 1 fimbriya ise genellikle sistit gelişiminden sorumlu tutulmaktadır. Yapılan çalışmalarda fimbriyaların üroepitelyumda lokal immün cevaba yol açtıkları, Tip 1 fimbriyanın fare mesanesinde programlanmış hücre ölümünü başlattığı gösterilmiştir ³². Bunların dışında pek çok çalışmada in vitro olarak P fimbriya ve Tip 1 fimbriyanın konaktaki immün cevabı doğrudan başlattığı ve üroepitelyal hücrelerden IL-8 salınımına yol açtığı gösterilmiştir ^{33,34}. Tip1 fimbriyanın etkisi lipopolisakkarit (LPS) bağımlıyken, P fimbriya LPS'den bağımsız seramid ilişkili mekanizmalarla oluşmaktadır ³⁴.

Lipopolisakkaritler (LPS) gram negatif bakterilerin dış zarının bir parçasıdır. Konak yanıtını aktive etmekte, nitrik oksit ve sitokin üretimine yol açmaktadırlar. Lipopolisakkaritlere bağlı inflamasyon yanıtı spesifik LPS bağlayıcı protein, CD14 reseptörü ve toll-like reseptör 4 (TLR-4) aracılığıyla olmaktadır. Toll-like reseptörler transmembran molekülleridir ve LPS gibi patojen spesifik elemanlara bağlı olarak yanıt oluşturmaktadırlar. Toll-like reseptörlerdeki gen polimorfizimleri sonucunda İYE 'lere yatkınlığın değişebildiği öne sürülmüş ve TLR-4 eksik farelerde İYE'lere yatkınlığın belirgin olarak arttığı gösterilmiştir ³⁵. E.colinin salgıladığı bir başka toksin ise alfa hemolizindir (Hly A). Hly A'nın renal skar gelişimindeki etkisi hücre içi kalsiyum miktarının kontrolsüz olarak

artmasına yol açması bu sayede hücre lizisi ve hücre ölümüne neden olması şeklindedir ³⁶. Sonuç olarak bakteriyel virülans faktörleri, konak immün sistemini aktive etmekte, sitokin üretimine yol açmakta ve direk sitotoksik etki göstermektedirler ³⁷.

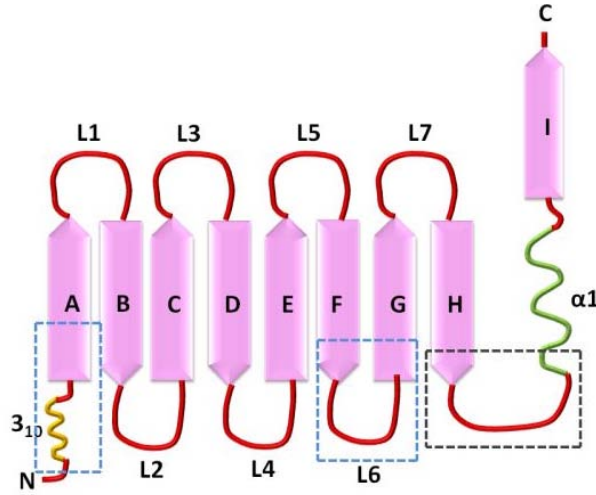
2.1.7.Renal parankimal skar gelişimine nötrofillerin etkisi:

Nötrofillerin enfekte dokuya göçü konak savunmasının önemli bir basamağıdır. Nötrofillerin aktivasyonu bakterinin giderilmesinde gereklidir ancak bu aktivasyon sonucu lokal doku hasarı da gelişebilmektedir. İdrarda nötrofillerin bulunması yani piyüri, kemotaksis, endoteliyal hücrelere nötrofillerin yapışması ve epitelyum hücrelerinden geçiş ile olmaktadır. Interlökin-8 bu olayı başlatmakta önemli rol almaktadır. İnflamatuvar hücrelerin enfeksiyon bölgesine ulaşması kemotaktik gradiente bağlı olmaktadır. Interlökin-8 antikorları ile tedavi sonrasında idrara kemotaksisin %50 oranında azaldığı, aynı zamanda bakteri olmaksızın sadece rekombinant IL-8 verildiği durumlarda da idrar yolu enfeksiyonuna benzer inflamatuvar cevabın oluştuğu gösterilmiştir³⁸. Kemotaksis nötrofiller, T hepler tip 1, bazofiller, eozinofiller, endoteliyal hücreler, dendritik hücreler, mast hücreleri ve üroepitelyum üzerinde bulunan IL-8 reseptörleri (CXCR1ve CXCR2) ile olmaktadır. Nötrofillerdeki CXCR reseptörünün uyarılması sonucunda enzimler salınmakta, ekzositoz, hücre içi kalsiyum mobilizasyonu ve fosfolipaz aktivasyonu görülmektedir. CXCR1 reseptörünün nötrofillerin üroepitelyal bariyeri geçmesinde yardımcı olduğu ve anti-CXCR1 ve anti IL-8 verildiğinde bu olayın bloke edildiği fakat CXCR2 ‘nin bloke edilmesi ile aynı etkinin olmadığı gösterilmiştir ³⁹. İnflamatuvar hücrelerin kandan enfekte dokuya çıkışında adezyon molekülleri olan ICAM-1 (hücre içi adezyon molekülü) ve E-selektinin rol aldığı bilinmektedir. Skar oluşumundaki etkileri ise açık değildir. Yapılan çalışmalarda APN’li çocukların hem plazma hem de idrar örneklerinde ICAM-1 ve E-selektin düzeylerinin artmış olduğu gösterilmiştir, fakat DMSA bulguları ile korelasyon bulunamamıştır ⁴⁰.

2.2.LİPOKALİNLER

Lipokalin protein ailesi küçük ekstrasellüler proteinlerin büyük bir bölümünü oluşturan gruptur. Lipokalin ailesi, sekans düzeyinde büyük değişiklikler gösterir. Bununla beraber lipokalinlerin çoğu ortak 3 karakteristik sekans modeline sahiptir.

Tüm sekans farklılığına karşın, lipokalinler kristal yapıları yüksek düzeyde korunmuş, 8 zincirli, sürekli hidrojen bağlı antiparalel b-barrel yapısına sahip bir internal ligand bağlama yüzeyi içerir. Yağ asidi bağlayıcı proteinler ve Avidinler gibi diğer iki ligand bağlayıcı protein ailesiyle birlikte lipokalinler hep birlikte yapısal süperaile olan kalkinleri oluştururlar ⁴¹ (Şekil 6).



Şekil 6: lipokalinlerin genel yapısı (43)

Lipokalinler çeşitli ortak moleküler tanınma özellikleri ile karakterizedir. Bunlar çeşitli küçük hidrofobik moleküllere bağlanabilme, özel hücre yüzey reseptörlerine bağlanabilme ve çözünabilir makromoleküller ile kompleks oluşturulabilme gibi özelliklerdir ⁴¹.

Lipokalinlerin çeşitli biyolojik fonksiyonları bu özelliklerin biri veya birkaçı ile belirlenir. Geçmişte lipokalinler transport proteinleri olarak sınıflanmış fakat şu anda retinol transportu, vertebralar arası kriptik renklenme, koku alma, prostaglandinlerin sentezi gibi büyük bir fonksiyonel çeşitlilik gösterdiği netleşmiştir. Lipokalinler aynı zamanda hücre homeostazının düzenlenmesi ve immün cevabın belirlenmesinde de rol almaktadır ⁴¹.

2.2.1.NÖTROFİL JELATİNAZ İLİŞKİLİ LİPOKALİN (NGAL)



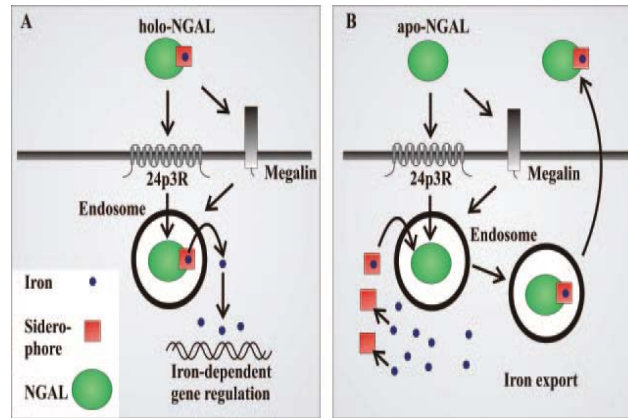
Şekil 7: NGAL'in üç boyutlu görünümü (www.emedicinehealty.com)

Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (NGAL, insan lipokalini, lipocalin 2 veya lcn2) başlangıçta nötrofillerin jelatinazına bağlı 25 kDa'lık bir protein olarak tanımlanmış olup lipokalin süperailisinin bir üyesidir. NGAL aynı zamanda insan nötrofil lipokalini olarak da bilinir. NGAL, başlangıçta nötrofil lizozomlarında bulunması ile karakterizeyken, daha sonra renal tübüler epitelyum, kolon, prostat, meme gibi çeşitli dokularda da eksprese edildiği görülmüştür ⁴².

Lipokalinler fiçı şeklinde tersiyer bir yapıya sahiptirler ve merkezlerindeki hidrofobik kaliks yapısında yağ asitleri, retinoidler gibi lipofilik molekülleri taşırlar. NGAL periferik

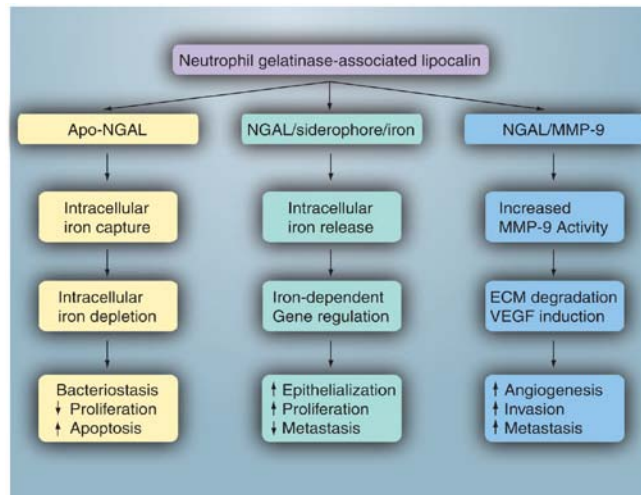
kısımında ise jelatinaz B (matriks metalloproteinaz-9, MMP-9) gibi moleküllere bağlanarak onların aktivitelerini düzenler^{43,44}.

NGAL ligandı, Goetz et al. tarafından bakterilerde üretilen rekombinant NGAL araştırmaları temelinde keşfedilmiştir. Protein ekspresyonu için kullanılan bakteri zincirine bağlı olarak renksiz veya açık pembe olarak izlenmiş olup bu rengin küçük demir bağlayıcı molekül olan "enterocheline" bağlı olduğu bulunmuştur⁴⁵. Bakteri demiri ekstrasellüler boşluktan toplamak için siderefor üretir ve sidereforları yenilemek için özel taşıyıcılar kullanılarak demir ihtiyaçlarını karşılarlar. NGAL'in major ligandı ise küçük demir bağlayıcı moleküller olan sideroforlardır. Öte yandan, ökaryotların sentezledikleri sideroforlar, proliferasyon ve diferansiasyon gibi çeşitli hücresel yanıtlar için kritik önem taşıyan NGAL aracılıklı demir döngüsünde rol oynarlar⁴⁴ (Şekil 8).



Şekil 8: NGAL ve Siderofor ilişkisi (46)

NGAL yüksek afiniteli demir şelatörü olan sideroforlar gibi organik moleküllere özel bağlanma yeteneğine sahiptir. NGAL bakterilerin demir elde etmek için sentezledikleri sideroforları bağlayarak bakteriostatik etki gösterir⁴³ (Şekil 9). Buna göre NGAL, demir ihtiyacını karşılamak için enterochelin üretimine ihtiyaç duyan bakteri türlerinin çoğalmasını engellemektedir.



Şekil 9: NGAL ve komplekslerinin çeşitli fonksiyonları (45)

Bu bulgular genetik olarak modifiye farelerde de gösterilmiştir. Bu farelerde NGAL geninin her iki kopyası da eksiktir. Bu hayvanlar belli gram (-) bakterilere daha duyarlı ve normal farelere göre sepsiste ölmeye daha meyillidirler. Bu yüzden NGAL bakteriyel enfeksiyonlara karşı doğal bağışıklığın önemli bir bileşenidir ⁴⁶.

2.2.1.1. NGAL ve böbrek hasarı ilişkisi

NGAL embriyonik böbrekte nefron oluşumunu aktive etmektedir ⁴⁴. Doku hasarlanmasında embriyonik genetik programın yeniden devreye girmesi sık görülmektedir. NGAL üretimi hasarlı dokularda belirgin olarak artmıştır. Örneğin; akut bakteriyel enfeksiyonu olan hastalarda NGAL konsantrasyonu serumda, astım veya KOAH'ı olan hastalarda balgamda, amfizemli hastalarda akciğer bronş sıvısında artmıştır.

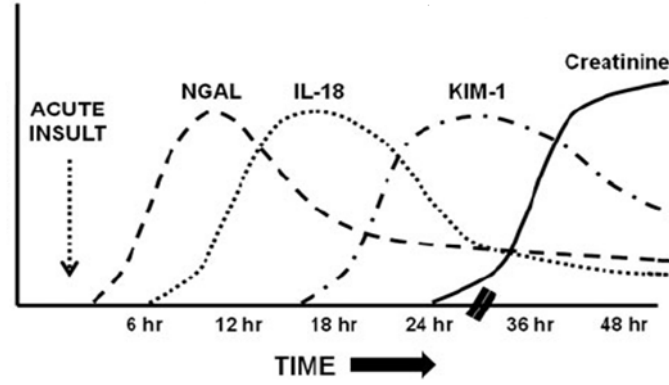
Akut böbrek hasarı herhangi bir sebeple glomerüler filtrasyonun saatler veya günler içerisinde azalarak başta üre ve kreatinin olmak üzere nitrojen artı ürünlerin birikmesi ile karakterize bir durumdur ⁴⁴.

Günümüzde rutin olarak kullanılan kreatinin, kreatinin klirensi testleri, ancak böbrek fonksiyonları belirgin olarak bozulduktan sonra bize bilgi vermektedir. Ayrıca yaş, cinsiyet, beslenme, kas kütlesi, kas metabolizması gibi faktörlere bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir. Mevcut belirteçlerin tanı koymada prediktif değeri düşüktür ve zamanlaması geçtir ^{43,44}. Oysa birçok hastalıkta glomerüler filtrasyon hızı (GFR) hakkında daha başlangıçta elde edilecek bilgiler böbrek patolojisinin prognozu bakımından hayati öneme sahiptir. Böbrekte oluşan hasarı belirlemede erken biyobelirteçlerin eksikliğinden dolayı önleyici ve tedavi edici önlemler genellikle geciktirilmektedir.

Akut böbrek hasarından kısa süre sonra NGAL'in yüksek düzeyde eksprese olduğu gösterilmiştir. NGAL indüksiyonu klasik renal hasar göstergelerinden (serum kreatinin, idrar NAG ve β 2-mikroglobulin düzeyleri gibi) önce meydana gelmektedir ^{47,48}. NGAL, son zamanlarda yapılan mikroarray analizlerde hayvan modellerinde iskemik veya nefrotoksik hasar sonrasında böbrekte en erken ve en yoğun uyarılan gen olarak karşımıza çıkmaktadır. NGAL üretimi renal epitelyum hasarı veya inflamasyonuna cevap olarak hızla artmaktadır. Doku düzeyindeki çalışmalarda da NGAL proteininin renal iskemi (sepsis, hipovolemi, kalp yetmezliği), nefrotoksin maruziyeti (antibiyotik, sisplatin, bifosfonat, siklosporin, NSAİİ, radyokontrast madde, hemoglobüri, ACEİ), renal parankimal hasar (glomerülo nefrit, minimal lezyon hastalığı, fokal segmental glomerüloskleroz, diabetik nefropati), hemolitik üremik sendrom, post-transplant rejeksiyon gibi durumlarda kan ve idrar yanı sıra böbrek proksimal ve distal tübüllerinde biriktiği gösterilmiştir ⁴⁹.

Kardiyopulmoner bypass cerrahisi uygulanan çocuk ve erişkinlerde, operasyondan 1-2 saat sonra NGAL düzeylerinin dramatik artış gösterdiği, bu artışın akut böbrek hasarı gelişenlerde (serum kreatinin düzeyinde birkaç gün içinde $>50\%$ artış olanlarda) çok daha belirgin olduğu bildirilmiştir ⁴⁹. Kardiyak cerrahi geçirmiş çocuk ve erişkinlerde yapılan başka bir çalışmada serum kreatininini artmış olanlarda, idrar ve serum NGAL konsantrasyonun da arttığı saptanmış, bunun ise akut böbrek hasarının erken dönem belirteci olarak kullanılabileceği söylenmiştir. Öte yandan, piyelonefrit geçiren hastalarda ¹⁶ ve deneysel piyelonefrit oluşturulan sıçanlarda ⁵⁰ idrar NGAL düzeylerinin ve NGAL/kreatinin oranının

yükseldiği ifade edilmiştir. İdrar NGAL konsantrasyonu, yaştan ve bazal serum kreatinin konsantrasyonundan bağımsızdır. Analitik açıdan idrar NGAL/kreatinin oranı ile daha değerli bilgiler elde edilir. Akut hasar sonrası bazı parametrelerin serumda tespit edilme sırası şekilde görüldüğü gibidir. Buna göre NGAL diğer parametrelere göre erken tanıda önemli bir avantaja sahiptir.



Şekil 10: Akut böbrek hasarında biyobelirteçlerin pik zamanları (50)

Ancak, NGAL düzeyleri sadece akut böbrek hasarında değil, kronik böbrek hastalığında ve kronik böbrek hasarının akut kötüleşmesinde de öngörü değerine sahiptir^{50,51}. Yine deneysel piyelonefrit oluşturulan sıçanlarda NGAL düzeylerinin akut dönemde çok yükseldiği, daha sonra düştüğü, ancak yine de yüksek seviyelerde seyrettiği ve 6 hafta sonra skar oluştuğunda bile yüksek kaldığı bildirilmiştir⁵⁰. Serum ve idrar NGAL düzeylerinin kronik böbrek yetersizliği olgularında devam eden hasarın bir göstergesi olduğu “orman yangını teorisi” ile dile getirilmiştir. Bu teoriye göre serum kreatinin düzeyi veya GFR fonksiyonel nefron sayısını temsil etmekte, ancak altta yatan süregelen hasarı gösterememektedir. Serum ve idrar NGAL düzeyleri ise böbrekteki aktif lezyonun şiddetini gösterebilmektedir⁴⁹.

2.3.RENAL SKAR VE FİBROZİS BELİRLEYİCİLERİ

2.3.1.Matriks Metalloproteinazlar(MMP):

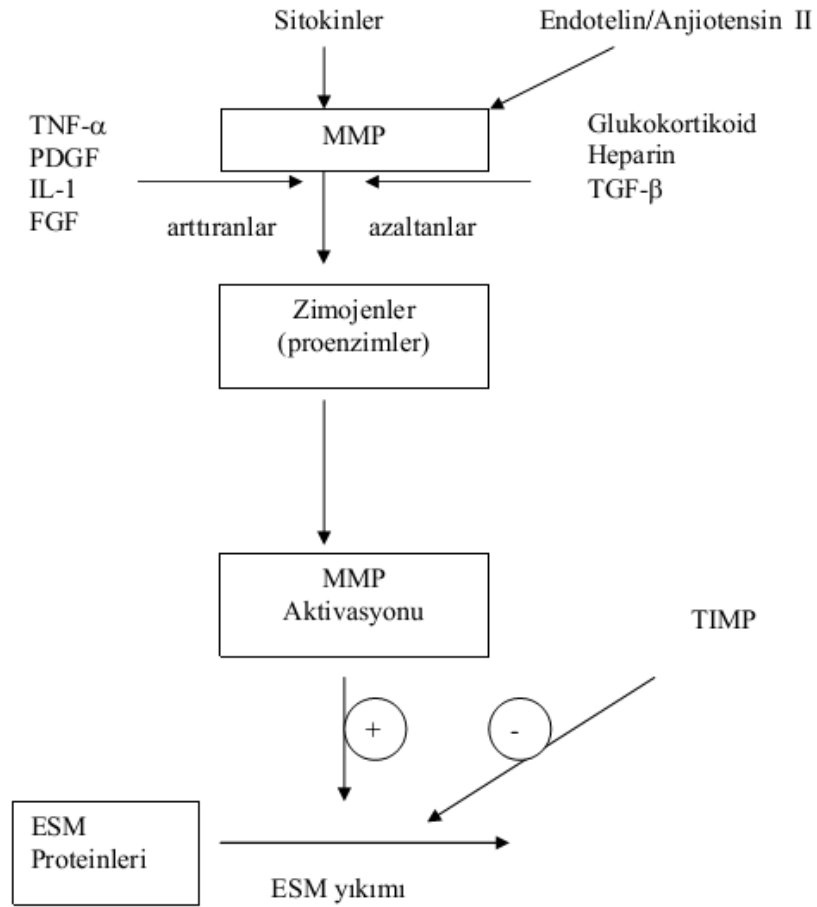
Matriks metalloproteinazlar çinko içeren geniş bir enzim ailesidir. İnterstisiyel kollajenazlar (MMP-1, -8, -13, 18), stromelizinler (MMP-3,-10), jelatinazlar (MMP-2, -9), matrilizinler (MMP-7, -11, -26), makrofaj elastazı (MMP-12) ve membran tipi MMP’ler (MMP-14, -17, -24, -25) olmak üzere çeşitli gruplara ayrılmışlardır (Tablo 2)⁵².

Grup adı	Tanımlayıcı isim	Numara	Temel substrat
Kollajenazlar	İnterstisyel kollajenaz	MMP-1	Kollajen Tip 1, 2, 3, 7 ve 10, jelatin, PG
	Nötrofil kollajenaz	MMP-8	Kollajen Tip 1, 2, 3, PG
	Kollajenaz 3	MMP-13	Kollajen Tip 1, 2, 3
	Kollajenaz-4	MMP-18	Kollajen I
Jelatinazlar	Jelatinaz A	MMP-2	Jelatin, kollajen IV, V, VII; X, XI, elastin
	Jelatinaz B	MMP-9	Jelatin, kollajen IV, V, XIV, elastin, PG
Stromelisinler	Stromelisin 1	MMP-3	PG, laminin, FN, jelatin, kollajen III, IV, IX ve X
	Stromelisin 2	MMP-10	PG, laminin, FN, jelatin, kollajen III, IV, IX ve X
	Stromelisin 3	MMP-11	PG, laminin, elastin, entaktin, tenaskin, versikan, jelatin, kollajen III, IV, IX, X
Membran tipi MMP'ler (MT-MMP'ler)	MT1-MMP	MMP-14	Kollajen I, II, III, FN, laminin, VN
	MT2-MMP	MMP-15	Agrekan, FN, laminin, tenaskin
	MT3-MMP	MMP-16	Kollajen III, FN, jelatin
	MT4-MMP	MMP-17	Jelatin
	MT5-MMP	MMP-24	PG
	MT6-MMP	MMP-25	Kollajen IV, fibrin, FN, jelatin
Diğerleri	Matrilisin 1	MMP-7	Serin proteaz inhibitörleri
	Matrilisin 2	MMP-12	Kollajen I, IV, elastin, FN, jelatin, laminin, VN
	RASI-1	MMP-19	Kollajen IV, entaktin, FN, jelatin, laminin, tenaskin
	Enamelisin	MMP-20	Agrekan, amelogenin
	X-MMP	MMP-21	Tanımlanmamıştır
	CA-MMP	MMP-23	Tanımlanmamıştır
	Matrilisin 2	MMP-26	Kollajen IV, FN, jelatin, VN
	CMMP (Horo)	MMP-27	Tanımlanmamıştır
	Epilisin	MMP-28	Tanımlanmamıştır

PG: Proteoglikan, FN: Fibronektin, VN: Vitronektin.

Tablo 2 : MMP enzimlerinin substrat özgüllüğüne göre sınıflandırılması (52)

MMP'ler embriyonik gelişim, anjiogenezis, inflamasyon, yara iyileşmesi ve fibrozis gibi pek çok patofizyolojik olayda önemli rol almaktadırlar. MMP'ler sadece matriks yıkımında değil, sitokinler, kemokinler ve büyüme faktörleri gibi matriks dışı elemanların da proteolitik aktivasyonunda ve yıkımında rol almaktadırlar ⁵³. MMP'lerin regülasyonu gen transkripsiyonu, glikolizasyon, hücre içi sinyalizasyon ve salgılanma, latent formların aktivasyonu, metalloproteinazların spesifik doku inhibitörü (TIMP) ile baskılanması gibi karmaşık mekanizmalarla olmaktadır ⁵² (Şekil 11).



Şekil 11: Matriks metalloproteinazların düzenlenmesi (52)

Jelatinazlar içinde yer alan MMP-9 ve MMP-2 parankimal organlardaki inflamasyon sırasında önemli rol oynamaktadır. Bu metalloproteinazlar asıl olarak denatüre kollajenleri ve bazal membran komponentlerini (özellikle Tip IV kollajen) yıkıma uğratmaktadır. MMP-9 farklı uyarılar sonucunda nötrofiller ve makrofajlardan salınmaktadır ⁵⁴. Bu hücreler dışında sitokinler ve büyüme faktörleri ile uyarılma sonrasında glomerüler epitelyum hücreleri, mesangial hücreler, tübül hücreleri ve fibroblastlar tarafından da üretilmektedirler ⁵⁵.

Matriks metalloproteinazların artmış üretimi veya aktivasyonu sonucunda dokularda degradasyonda artış ve bu bölgelere kollajenin yerleşmesi görülmektedir. Bazal membranın asıl yapısını oluşturan Tip IV kollajen dağılımındaki bu dengesizlik ise renal skar gelişimine neden olmaktadır. Bunun yanında MMP üretimindeki veya aktivasyonundaki azalma da kollajen degradasyonunda azalmaya yol açmaktadır. Sonuçta MMP'lar skar gelişiminde ve doku kontraksiyonunda rol almaktadırlar ⁵⁶.

Matriks metalloproteinazların aktivasyonunu kontrol eden en önemli mekanizma metalloproteinazların doku inhibitörleridir. Bu grupta TIMP-1, 2, 3, 4 olmak üzere dört molekül bulunmaktadır. TIMP-1, MMP'lerin asıl inhibitörüdür. TIMP-1 aktivasyonu ile fibrinolizis azalmakta ve bunun sonucunda dokuya kollajen göçü olmaktadır. TIMP-1 üretimi IL-1 β ve TNF- α ile artmaktadır ⁵⁷. MMP-9 ile ilişkili olarak TIMP-1

konsantrasyonlarındaki artışın akut piyelonefrit sonrası gelişen skar da rol aldığı öne sürülmüştür. Yapılan bir çalışmada, idrarda MMP-9/ TIMP-1 oranında azalma varsa bu durumda akut piyelonefrit sonrasında DMSA sintigrafisinde daha ciddi değişikliklere rastlanıldığı gösterilmiştir ⁵⁰. Yapılan başka bir çalışmada, TIMP-1 ekspresyonunun hidronefrotik sıçan böbreklerinde arttığı ve TIMP-1 konsantrasyonunun bu böbreklerdeki tübülointerstisiyel skar gelişimi ile korelasyon gösterdiği ileri sürülmüştür ⁵⁸. Bu nedenle APN sırasında salgılanan pek çok sitokin, TIMP-1 ve MMP-9'un böbreklerde ekspresyonunu arttırarak skar oluşumuna yol açabileceği öne sürülmektedir ³¹. Yapılan çalışmalarda APN dışındaki diğer böbrek hastalıklarının patogeneğinde de MMP-9 ve TIMP-1'in görev aldığı gösterilmiştir ⁵⁹⁻⁶¹. Akiyama ve ark.'nın yaptıkları çalışmada Ig A nefropatisi, lupus nefriti ve membranöz nefritte serum MMP-1, -2, -3, TIMP-1, -2 ve Tip 4 kollajen düzeyleri çalışılmış, mesangioproliferatif nefrit olan Ig A nefriti ve lupus nefritinde MMP-3 ve TIMP-2'nin arttığı, membranoproliferatif glomerülonefritte ise tip 4 kollajen, MMP-2 ve TIMP-1 düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Elde edilen bu veriler sonucunda glomerülonefriti olan hastaların ekstrasellüler matriks (ESM) metabolizmasında dengesizlik olduğu ve buna bağlı olarak glomerülonefrit tablosunun ortaya çıktığı öne sürülmüştür ⁶². Endo ve ark.'nın yaptıkları çalışmada son dönem böbrek yetmezliğine ilerleyen farklı glomeruler hastalıkların, mesangial matrikse tip 4 kollajen, proteoglikan ve lamininin akımı ve glomerüler bazal membranda incleme sonucu olduğu belirtilmiştir ⁶⁰.

Hem mesangial matriks hem de glomerüler bazal membran metabolizmasının sentez ve yıkım ile sağlandığı belirtilmiştir. Bu nedenle farklı glomerüler hastalığa sahip olan hastaların serumlarında MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri çalışılmış ve MMP-2 düzeylerinin bu hastalarda yüksek olduğu, MMP-9 düzeylerinin ise farklılık göstermediği anlaşılmıştır. Bu sonuçlarla MMP-2'nin glomerüler bazal membran yıkımında önemli rol aldığı, MMP-9'un ise mesangial matrikste yıkıma yol açtığı ileri sürülmüştür ⁶⁰. Nakamura ve ark.'nın yaptıkları çalışmada ise polikistik böbrek hastalığı olan hastaların serumlarında MMP-1, TIMP-1 ve tip 4 kollajen düzeyleri çalışılmış, MMP-1, TIMP-1 ve tip 4 kollajen serum düzeylerinin polikistik böbrek hastalığına sahip olanlarda kontrol grubuna göre belirgin yüksek olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak ESM'de meydana gelen sentez ve yıkım olayları arasındaki dengesizliğin buna yol açtığı öne sürülmüştür ⁶¹. Skar gelişiminde ayrıca TNF- α , IL-1 β ve TGF- β 'nin etkileri de bilinmektedir. TNF- α , IL-1 β ve TGF- β üretimini uyarmakta böylece fibrozis ve proteolizis arasındaki dengeyi düzenleyerek tübüler bazal membran, ekstrasellüler matriks etkilenimine yol açmaktadır. TGF- β fibroze yolçan öncü bir sitokindir ve fibrogenesis aktivasyonuna sebep olmaktadır. Fazla üretimi sonrasında da glomerüloskleroz ve ekstrasellüler matrikste aşırı üretim görülmektedir. TGF- β 'nin artışı kollajen, fibronektin, proteoglikan ve hücre yüzey integrinlerinin sentezinde artmaya, proteinazların üretiminin baskılanmasına ve proteinazların inhibitörlerinin üretiminde artışa rastlanmaktadır. Cotton ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada TGF- β genindeki polimorfizmlere bakılarak da renal fibroze ve skar gelişimine yatkınlıktaki farklılıklar açıklanmaya çalışılmaktadır ⁶³. Ayrıca MMP-9'un NGAL ile birlikte değerlendirildiği başka çalışmalarda mevcuttur.

121 tip1 DM ve 55 kontrol hastasında yapılan bir çalışmada plazma MMP-9, idrar NGAL ve idrar MMP-9 düzeylerinin glisemi, renal fonksiyonlar, ve albuminüri derecesi ile ilişkilerine bakılmış, Tip1 DM'de idrarda belirgin NGAL ve MMP-9 atılımı izlenmiş olup

birbirleriyle yüksek deredece ilişkili, glisemik ölçümler ve albumüni ile idrar NGAL ve idrar MMP-9 atılımının doğru orantılı bulunmuştur ⁶⁴.

İnvaziv duktal karsinomu olan kadınlarda kontrol ile karşılaştırıldığında serumda belirgin MMP-9 ve NGAL düzeyi artışı izlenmiştir. Bulgular serum MMP-9 ve NGAL ölçümlerinin meme kanserinin non invaziv takibinde kullanışlı olabileceğini göstermektedir ⁶⁵.

Rektal kanserli 100 hastada yapılan çalışmada 69 olguda NGAL mRNA ekspresyonun artmış olduğu ve bu artışın tümör progresyonu ile anlamlı ilişkili olduğu bulunmuştur. NGAL mRNA artışı MMP-9 ile doğru orantılı olup NGAL mRNA artışının invazyon derinliği ile anlamlı olarak ilişkili olduğu bulunmuştur ⁶⁶.

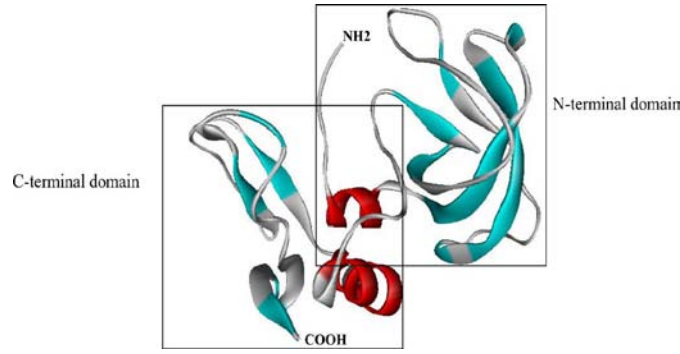
2.3.2.METALLOPROTEİNAZLARIN SPESİFİK DOKU İNHİBİTÖRLERİ (TIMP'ler):

TIMP'ler bağ dokusu metabolizmasının düzenlenmesinde temel olan proteinlerdir. Pek çok dokuda ve vücut sıvılarında bulunurlar. MMP'lere irreversibl ve non-kovalent biçimde bağlanarak latent enzim formunun aktivasyonunu ve katalitik aktivitenin sürdürülmesini de inhibe ederler. Böylece TIMP'ler MMP enzim aktivitesini ve MMP/TIMP dengesini sıkı kontrol altında tutarlar. İnsanlarda TIMP-1, 2, 3 ve 4 olmak üzere bugüne dek tanımlanmış 4 TIMP türü bulunmaktadır. TIMP'ler de MMP'ler gibi vasküler düz kas hücreleri, endotel hücreleri, kan hücreleri, bağ dokusu hücreleri ve makrofajlar tarafından sentez edilirler ⁶⁷. TIMP'lerin farklı bir etkileri de proMMP'lerle etkileşimleri ve ekspresyonlarını düzenlemeleridir.

TIMP-1, TIMP-2 ve TIMP-4 çözünür formda iken TIMP-3 matrikse sıkıca bağlıdır. TIMP-4'ün ekspresyon paterni diğer TIMP'lerden farklıdır çünkü TIMP-4 mRNA beyin ve kalpte lokalizedir ⁶⁸. TIMP'ler MMP'lere bağlanmanın yanında proMMP'lerle kompleks oluşturarak MMP aktivasyonunu düzenler ⁶⁹. TIMP-1 proMMP-9 ile kompleks oluşturur. TIMP-2 proMMP-2 ile kompleks yapar enzim aktivasyonunu kolaylaştırır. TIMP-3 hem proMMP-2 hem de proMMP-9'a bağlanır. TIMP-4 ise proMMP-2'nin c terminal parçasına bağlanır ⁶⁹. TIMP-1 ile TIMP-2'nin %40 aminoasit dizisi (özellikle N terminal bölgesi) homologdur ⁶⁹.

2.3.2.1.TIMP-1

TIMP-1 geni X kromozomunda lokalize 184 aminoasit içeren 28.5 kDa ağırlığında bir proteindir ⁷⁰. TIMP-1 6 disülfid bağına sahip 12 sistein rezidünün protein içinde iki domain yapı oluşturmaya meydana gelir. Bu disülfid bağları TIMP-1'e pH, sıcaklık, denature edici faktörlere karşı dayanıklılık sağlar. N-terminal domain MMP inhibitör aktivitesi içerir ⁷¹. TIMP-1 birçok doku, hücre ve vücut sıvısından salınmaktadır. TIMP-1 proteini prekürsör, serbest TIMP-1, proMMP-9 ile 1:1 sitokimiyetik kompleks halinde ya da membrana bağlı olmayan MMP'lerin proteolitik aktivitelerini inhibe edici halde bulunabilirler. Ekstrasellüler aralığa salınan TIMP-1 sinyal peptid içerir.



Şekil 12: TIMP-1'in yapısı (69)

Hücre yüzeyinde TIMP-1'e spesifik bağlayıcı protein saptanmıştır. İnsan meme karsinomu hücre hattında (BC61) 80 kDa transmembran proteinin TIMP-1 için yüksek affinite gösterdiği bulunmuştur ⁷².

2.3.3.TIMP-1 ve MMP inhibisyonu

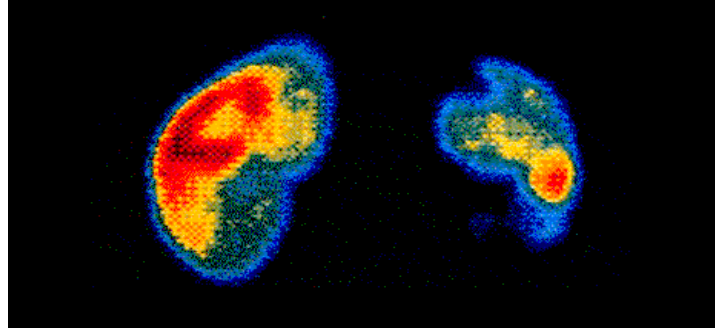
TIMP-1'in ana fonksiyonlarından biri MMP inhibisyonudur. MMP ailesi 25'den fazla üyesi tanımlanmış bazal membranı da kapsayan ekstrasellüler matriksin birçok komponentini parçalama yeteneğine sahip çinko bağımlı endopeptidazlardır ⁷³. TIMP-1 proteinin N terminal kısmı MMP inhibisyonundan sorumludur ⁷¹.

2.4. PİYELONEFRİTE TANISAL YAKLAŞIM

İdrar yolu enfeksiyonlarında kullanılan görüntüleme yöntemlerinin amacı, piyelonefrit tanısını koyabilmek, piyelonefrite yatkınlık yaratabilecek anatomik bozuklukları ortaya çıkarmak ve renal parankimal hasarın gösterilmesidir ⁷⁴.

2.4.1. Teknesyum-99m Dimerkaptosüksinik Asit (DMSA) Sintigrafisi:

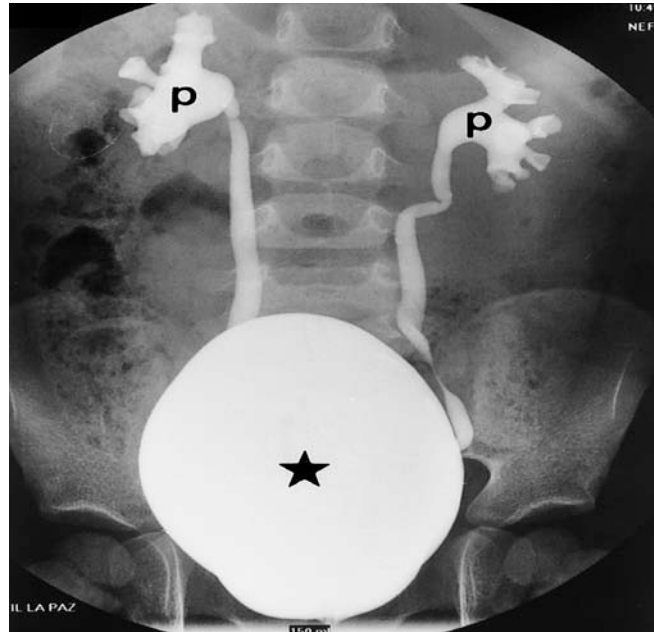
Akut piyelonefrit geçiren çocuklarda ilk bir hafta içinde çekilen DMSA sintigrafisinin erken dönemde renal parankimdeki enfeksiyonu göstermede en duyarlı test olduğu ve altın standart olarak kabul edildiği bilinmektedir ⁷⁵⁻⁷⁷. Teknesyum-99m ile işaretli dimerkaptosüksinik asidin damar içine verilmesinden 4 saat sonra alınan görüntülerle elde edilmektedir. Böbrek kenarlarının düzenli olması, her iki böbreğin şeklinin ve boyutunun normal olması, parankimal tutulumun homojen olması normal DMSA bulgularıdır. Hafif şişme, lokal veya yaygın olarak parankim aktivitesinde azalma enfeksiyonu göstermektedir. Yaygın veya keskin kenar çentiklenmesi, hacim kaybına yol açan her türlü şekil bozukluğu, aktivitenin belirgin azalması renal parankimal skar bulgularıdır. APN tanısı alan çocukların erken dönemde yapılan DMSA sintigrafilerinde % 38-96 oranında renal parankimde enfeksiyon bulgusu görülmektedir ^{78,79}. Bu görüntüleme yönteminin duyarlılığı % 100 olmadığı için her zaman APN'yi dışlamak mümkün değildir. Bunun yanı sıra hastaların görüntüleme sırasında orta derecede (1mSV'lik) radyasyona maruz kalması, işlem sırasında damar yolu açılmasının gerekmesi, maliyetinin yüksek olması ve asıl önemlisi akut renal hasar ile eski skarı birbirinden ayırt edememesi önemli dezavantajlarından ⁸⁰. Çocuklarda APN sonrası gelişebilecek kalıcı hasar, uzun dönemde ciddi komplikasyonlara yol açması nedeniyle mutlaka tanımlanmalıdır. DMSA sintigrafisinde APN sonrası ileri dönemde böbrek hasarını saptamak için enfeksiyondan en erken 6 ay sonra çekilmesi önerilmektedir ⁸¹.



Şekil 13: Piyelonefritli bir hastanın Tc-99 DMSA sintigrafisi (www.emedicinehealty.com)

2.4.2.Voiding Sistoüretrografi (VSUG):

Voiding Sistoüretrografi (VSUG) mesane içerisine üretradan kateter ile girilerek kontrast madde verildikten sonra mesane dolu iken ve işeme sırasında üriner sistemin radyolojik olarak görüntülenmesini sağlamaktadır. VSUG ile VÜR'ün derecelendirilmesi ve üretranın değerlendirilmesi mümkün olmaktadır. VÜR, idrarın mesaneden üreterlere veya böbreğe geri kaçıışı anlamına gelmektedir. VÜR çoğu kez doğumsal olarak karşımıza çıkmakta nadir olarak da İYE, işeme bozukluğu, kas-sinir hastalığı, üreteral tıkanıklığa bağlı mesane fonksiyon bozukluğu sonucu gelişebilmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde çocukluk çağı son dönem böbrek yetmezliği ve hipertansiyon etyolojisinde en sık karşılaşılan nedenlerden biridir. Bu nedenle VÜR varlığı mutlaka tanımlanmalı ve erken tedavi edilmelidir. VSUG'un, VÜR'ün saptanması için İYE tanısından sonraki ilk 4-6 haftada yapılması önerilmektedir. Bu görüntüleme yönteminin dezavantajı işlem sırasında iyonize radyasyona maruz kalma ve mesaneye sonda ile girişim yapılmasıdır.



Şekil 14: Voiding Sistoüretrografi (VCUG) görüntüsü (www.emedicinehealty.com)

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

3.GEREÇ ve YÖNTEM:

3.1.Olgu Seçimi:

Çalışmaya Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Nefroloji polikliniğine başvurarak piyelonefrit tanısı alan [Akut piyelonefrit ateşi ($>38^{\circ}\text{C}$), piyüri (≥ 25 lökosit/ μL), anlamlı bakteriüri ($>10^5$ cfu/mL) ve C- reaktif protein yüksekliği (>8 mg/L) ⁸²] ve en az altı ay sonra DMSA sintigrafi değerlendirmesi için çağrılan 3 ile 17 yaş arası 87 hasta alındı. Obstrüktif üropatisi ve nörojen mesanesi olanlar çalışma dışı tutulurken, primer vezikoüreteral reflüsü olan hastalar çalışmaya dahil edildi.

Hastalar piyelonefrit atağından en az altı ay sonra yapılan ^{99m}Tc-DMSA böbrek sintigrafisinde saptanan hipoaktif alan ve/veya kontur düzensizliği varlığına göre renal skar (-) (Grup 1) ve renal skar (+) (Grup 2) olarak gruplandırıldı. Öte yandan, her iki gruptaki hastalar VCUG’da reflü varlığına göre VÜR (-) ve VÜR (+) olarak alt gruplara ayrıldı. Tüm hastaların kreatinin klirensi Schwartz formülüne göre hesaplandı:

$$\text{kreatin klirensi} = k \times \text{boy (cm)} / \text{serum kreatinin (mg/dL)}$$

Formüldeki k katsayısı preterm bebekler için 0,33, term bebeklerde 0,45, 1-12 yaş çocuklarda 0,55, 12 yaş üstü kızlarda 0,55 ve erkeklerde 0,70 olarak kabul edilmektedir.

3.2.BİYOKİMYASAL ANALİZLER

3.2.1.PLAZMA NGAL ÇALIŞMA PROSEDÜRÜ:

Plazma NGAL analizi Biosite Triage Pro Meter cihazı kullanılarak çalışıldı.

Test için gerekli malzemeler:

Test kartuşu (NGAL’e karşı floresans boya ile işaretli murin monoklonal antikoru içermektedir) 25 adet/kutu
Transfer pipeti 25 adet/kutu
Reaktif kod cipi 1adet/kutu
Printer kağıdı
Triage NGAL kontrol

Numune hazırlığı:

Analiz için kullanılan örnekler 4000 rpm’de 10 dk santrifüjlenerek çalışma zamanına kadar -80°C ’de saklandı. Analize başlamadan önce tüm reaktifler ve örnekler oda sıcaklığına getirildi.

Ölçüm yöntemi:

Örnek olarak EDTA antikoagülanlı tam kan veya plazma kullanılmaktadır.

Bizim çalışmamızda plazma örnekleri kullanılmıştır. Cihaz immün floresans ölçüm yöntemini kullanarak ölçüm yapmaktadır.

Test kartuşuna örnek eklenir. Örnek floresans antikor konjugatlarıyla reaksiyona girer ve kılcak etki ile kartuş boyunca örnek akışı olur. Örnekteki analitin varlığı deteksiyon bölgesinde solit faza floresans konjugatların bağlanmasını engeller ve böylece analitin konsantrasyonu detekte edilen floresansla ters ilişkilidir.

Ölçüm aralığı: 60 - 1300 ng/ mL

3.2.2.İDRAR NGAL ÇALIŞMA PROSEDÜRÜ:

Çalışma Abbott idrar NGAL kiti kullanılarak yapıldı.

Reaktifler:

Architect idrar NGAL kiti (1P37); 100 test

Mikropartiküller: 1 şişe BİS-TRİS tamponunda protein (sığır) stabilizatörü ve deterjan ile Anti-NGAL kaplı mikropartiküller.

Konjugat: 1 şişe MES tamponunda protein (sığır) stabilizatörü ve deterjan ile Anti-NGAL akridinium etiketli konjugat.
--

Diğer reaktifler:

Pre trigger solüsyon: % 1,32 hidrojen peroksit içermektedir.

Trigger solüsyon: 0,35 N sodyum hidroksit içermektedir.
--

Wash buffer: Fosfat tamponlu salin çözeltisi içermektedir.

Kalibratör: 1 şişe kullanıma hazır likit solüsyon.

Kontroller: Düşük (20.2 ng/mL), Orta (196.7ng/mL) , Yüksek (1174.4 ng/mL) olmak üzere 3 düzey kontrol materyali mevcuttur.

Numune hazırlığı:

Analiz için kullanılan spot idrar örnekleri 4000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenerek çalışma zamanına kadar -80°C'de saklandı.

Ölçüm yöntemi:

İdrar NGAL tetkiki insan idrarında bulunan nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin'in kantitatif tespiti amaçlı kullanılan bir kemilüminesan mikropartikül immünolojik tetkiktir. Tespit için monoklonal antikorlar ile kaplı mikropartiküller kullanılır. İki adımlı bir tetkiktir.

İlk adımda numune ve yıkama tamponu 1:10 numune dilüsyonu üretmek için birleştirilir. Önceden seyreltilmiş numunenin bir aliquotu yıkama tamponu ve anti-NGAL kaplı paramanyetik mikropartiküller birleştirilir. Numunede mevcut NGAL, anti-NGAL kaplı mikropartiküllere tutunur ve reaksiyon karışımı yıkanır. İkinci adımda anti-NGAL akredinium işaretli konjugat eklenir. Diğer bir yıkama dönüşümünden sonra pretrigger ve trigger solüsyonları reaksiyon karışımına eklenir. Elde edilen kemilüminesan reaksiyon, relatif ışık üniteleri (RLU'lar) olarak ölçülür. Örnekteki NGAL ve Architect system optik sistemleri ile tespit edilen RLU'lar arasında bir ilişki bulunmaktadır.

Ölçüm aralığı:

10 ng/mL ile 1500 ng/mL arasındadır. Otomatik dilüsyon prosedürü kullanıldığında 6000 ng/mL'ye kadar rapor edilebilir.

3.2.3.İDRAR TIMP-1 ÇALIŞMA PROSEDÜRÜ:

Ölçüm yöntemi :

Bu ölçüm için kantitatif sandviç enzim immün ölçüm yöntemi kullanılmıştır. Bu teknikte kuyucuklar TIMP-1'e spesifik monoklonal antikorlarla kaplanmıştır. Standartlar ve örnekler kuyucuklara pipetlenir. Ardından Biotin konjugatı kuyucuklara eklenir ve oda ısısında inkübasyona bırakılır. Yıkama yapılarak Streptavidin HRP Working solüsyonu eklenerek tekrar inkübe edilir ve ardından ikinci yıkama işlemine geçilir. Kromojen ve ardından stop solüsyonunun eklenmesiyle birlikte başlangıç basamağında bağlanan TIMP-1 miktarı renk yoğunluğuyla orantılı olarak ölçülür. Renk değişimi durur ve renk yoğunluğu ölçülür.

Test için gerekli malzemeler;

Monoklonal antikorlar kaplı mikrokuyucuklar içeren 1 adet 96 testlik plate
Human TIMP-1 Standart, 2 kutu
Standart Dilüent Tamponu 1 kutu ,60 mL
Human TIMP-1 Biotin konjugatı, 1 kutu, 6 mL
Streptavidin-HRP (100X), 1 kutu, 0,125 mL
Streptavidin-HRP Dilüent, 1 kutu, 25 mL
Konsantre formda Wash Buffer (25x), 100 mL
TMB Kromojen 1 kutu, 25 mL
Stop Solüsyonu 1 kutu 25 mL

Standart Hazırlanışı ve Analiz Aşamaları:

- Spot idrar örnekleri 1/20 dilüsyon yapılarak çalışıldı.
- Analize başlamadan önce kit içinde bulunan tüm reaktifler ve örnekler oda sıcaklığına getirildi.
- 25 ng'lık Standart 1 mL Standart dilüsyon tamponu ile çözüldü. Seri dilüsyonlar yapılarak 12.5- 6.25- 3.12- 1.56 ng/mL'lik standartlar elde edildi.
- İlk kuyucuğa 50 µL Standart dilüsyon tamponu kör olarak eklendi.
- İkinci kuyucuktan itibaren 50 µL 5 düzey standart ve hasta örnekleri eklendi.
- Her kuyucuğa 50 µL Biotin konjugatı eklendi.
- Plak 120 dakika oda ısısında inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonunda içerik boşaltılıp plak 4 kez 400 µL yıkama tamponu ile yıkandı.
- 100 µL Streptavidin-HRP working solüsyonu her kuyucuğa eklendi. 30 dakika oda ısısında inkübasyona bırakıldı.
- Plak 4 kez 400 µL yıkama tamponu ile yıkandı.
- Her kuyucuğa 100 µL Stabilize kromojen eklendi. 30 dakika oda ısısında inkübasyona bırakıldı. Plak ışıktan korundu.
- 100 µL her kuyucuğa stop solüsyon eklendi.
- Optik dansite 450 nm'de okundu.
- Örnek sonuçları 20 dilüsyon faktörüyle çarpılarak düzeltilmiş sonuçlar elde edildi. Plak, ELİSA okuyucusunda 450 nm dalga boyunda okundu.

3.2.4.İDRAR MMP-9 ÇALIŞMA PROSEDÜRÜ:

Ölçüm yöntemi :

Bu ölçüm için kantitatif sandviç enzim immün ölçüm yöntemi kullanılmıştır. Bu teknikte kuyucuklar MMP-9'a spesifik monoklonal antikorlarla kaplanmıştır. Standartlar ve örnekler kuyucuklara pipetlendiğinde MMP-9 varlığında, kaplı antikorlarla bağlanma gerçekleşir. Bağlanmayan komponentlerin uzaklaştırılmasından sonra MMP-9'e spesifik poliklonal antikorlar kuyucuklara konur. Yıkama yapılır bağlanmamış antikor-enzim reaktifi uzaklaştırılır. Working solüsyonu eklenir ve inkübasyonun ardından tekrar yıkama yapılır. Kromojen ve ardından stop solüsyonunu eklenmesiyle birlikte başlangıç basamağında bağlanan MMP-9 miktarı renk yoğunluğuyla orantılı olarak ölçülür. Renk değişimi durur ve renk yoğunluğu ölçülür.

Test için gerekli malzemeler;

Liyofilize rekombinant insan MMP-9 standartı, 10 ng/tüp x 2
Anti-human MMP-9 antikorlar kaplı mikro kuyucuklar içeren 1 adet 96 testlik plate
Örnek dilüsyon tamponu,30 mL
Biotinlenmiş anti-human MMP-9 antikor: 130 µL, dilüsyon 1:100
Antikor dilüent tamponu: 12 mL
Avidin-Biotin-Peroksidaz Kompleksi (ABC): 130 µL, dilüsyon 1:100
ABC dilüent tamponu: 12 mL
TMB kromojen ajan: 10 mL
TMB stop solüsyonu: 10 mL
Liyofilize rekombinant insan MMP-9 kontrol materyali, 2 kutu
Yıkama solüsyonu: 0,01 M PBS, 1000 mL

Standart Hazırlanışı ve Analiz Aşamaları:

- Spot idrar örnekleri 1/10 dilüsyon yapılarak çalışıldı.
- Analize başlamadan önce kit içinde bulunan tüm reaktifler ve örnekler oda sıcaklığına getirilerek çalışıldı.
- 10 ng'lık Standart 1 mL örnek dilüsyon tamponu ile çözüldü.Seri dilüsyonlar yapılarak 5000-2500-1250-625-313-156 pg/mL'lik standartlar elde edildi.
- İlk kuyucuğa 100 µL örnek dilüsyon tamponu kör olarak eklendi.
- İkinci kuyucuktan itibaren 100µL 7 düzey standart, tek düzey kontrol materyali ve hasta örnekleri eklendi.
- Plak 90 dakika 37°C'de çalkalayıcı üzerinde inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonunda içerik boşaltılıp 100 biotinlenmiş anti human MMP -9 antibody working solüsyon eklendi ve 60 dakika 37°C'de çalkalayıcı üzerinde inkübasyona bırakıldı.

- Plak 3 kez 300 µL yıkama tamponu ile yıkandı.
- 100 µL ABC working solüsyonu her kuyucuğa eklendi. 30 dakika 37°C’de çalkalayıcı üzerinde inkübasyona bırakıldı.
- Plak 5 kez 300 µL yıkama tamponu ile yıkandı.
- Her kuyucuğa 90 µL TMB kromojen eklendi. 30 dakika 37°C’de çalkalayıcı üzerinde inkübasyona bırakıldı. Plak ışıktan korundu.
- 100 µL her kuyucuğa stop solüsyon eklendi.
- Optik dansite 450 nm’de okundu.
- Örnek sonuçları 10 dilüsyon faktörüyle çarpılarak düzeltilmiş sonuçlar elde edildi.

3.2.5.İDRAR KREATİNİN ÇALIŞMA PROSEDÜRÜ:

Ölçüm için Abbott Architect C 16000 cihazı kullanıldı.

Test amacı ve prensibi:

İnsan idrar, serum ve plazmasında kantitatif kreatinin ölçümü, böbrek hastalıklarının tanısı ve değerlendirilmesi amacıyla kullanılır.

Ölçüm yöntemi:

Kolorimetrik Jaffe reaksiyonudur. Alkali pH’da örnekteki kreatinin pikratla reaksiyona girerek kreatinin pikrat kompleksi oluşturmaktadır (Jaffe reaksiyonu).

Oluşan rengin 500 nm’de verdiği absorbansdaki artış kreatinin konsantrasyonuyla doğru orantılıdır.

Alkali pH		
Kreatinin + pikrik asit →→→→ sarı-kırmızı kompleks		

Reaktifler:

Reaktif 1	Sodyum hidroksit	0.25 mol/L
Reaktif 2	Pikrik asit	20.5 mmol/L

3.3.İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Grup 1 ve Grup 2’deki hastalar spot idrar kreatinini, kreatinin klirensi, plazma ve idrar NGAL, idrar MMP-9 ve TIMP-1 değerleri ile idrar NGAL/kreatinin, MMP-9/kreatinin, TIMP-1/kreatinin ve MMP-9/TIMP-1 oranları yönünden karşılaştırıldı. Aynı karşılaştırmalar her iki gruptaki alt gruplar (VÜR negatif ve pozitif hastalar) için de tekrarlandı. Grup 2’deki

hastalarda yukarıda adı geçen parametreler arasında korelasyon varlığı araştırıldı. İstatistiksel değerlendirmede ‘SPSS for Windows 15.0’ programı kullanıldı.

Hasta sayımız parametrik analiz için uygun olmasına rağmen dağılımın normal olmamasından dolayı non parametrik analiz yapıldı.

Ölçümle belirlenen değerşkenlerin karşılaştırılması için ikili gruplarda Mann-Whitney U testi, klinikopatolojik değerşkenler arasındaki ilişkinin incelenmesinde Spearman’s korelasyon testleri uygulandı.

Korelasyon katsayısı (r değerı), 0,00-0,24 arasında ise zayıf; 0,25-0,49 arasında ise orta; 0,50-0,74 arasında ise güçlü ve 0,75-1,00 arasında ise çok güçlü olarak değerlendirildi.

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

4.BULGULAR

Çalışmaya katılan 87 hasta renal skar (-) (Grup 1) ve renal skar (+) (Grup 2) olarak ayrıldı. Grup 1’de 35 (%40.2), Grup 2’de ise 52 (%59.8) hasta bulunmaktadır. Grupların cinsiyet dağılımları tabloda verilmiştir.

Cinsiyet açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır (Tablo 3).

Tablo 3: Gruplara göre cinsiyet dağılımı

	Grup 1 n	Grup 2 n	p
Kız	29	44	>0.05
Erkek	6	8	
Toplam	35	52	

Hastaların yaşı açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Tablo 4).

Tablo 4: Gruplara göre yaş verileri

Hasta yaşı (yıl)	Grup1 (n:35)	Grup 2 (n:52)	p
Ortalama	9.74	10.06	>0.05
Ortanca	9	10	
Standart sapma	3.67	3.4	
En küçük yaş	3	3	
En büyük yaş	17	16	

Hastalar VÜR varlığı açısından incelendiğinde 40 hastada (%46) VÜR saptanmıştır. Grup 2’de VUR anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur (Tablo 5).

Tablo 5: Vezikoüreteral reflünün gruplara göre dağılımı

	Grup 1 n	Grup 2 n	p
VÜR (+)	9	31	0,002
VÜR (-)	26	21	
Toplam	35	52	

4.1.BİYOKİMYASAL VERİLERİN ANALİZLERİ

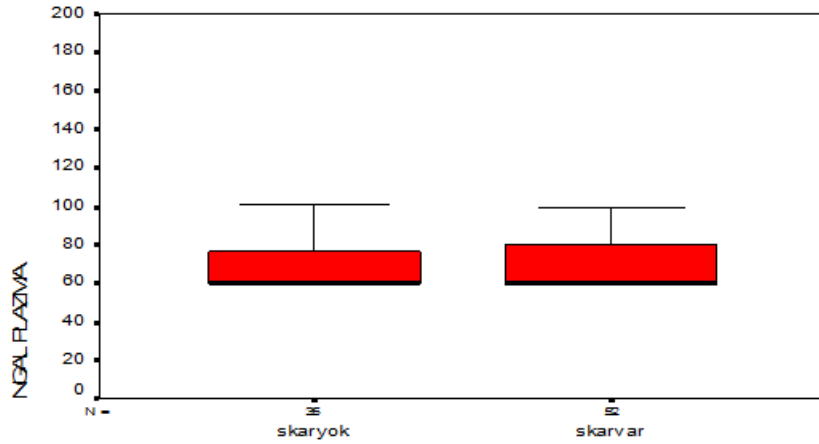
4.1.1. Plazma ve idrar NGAL düzeyi:

Grup 1 ile Grup 2 de, plazma ve idrar NGAL düzeyleri açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır (Tablo 6 - 7 ve Şekil 15 - 16) (p: 0.366 ve 0.299).

Tablo 6: Grup 1 (renal skarı [-]) ve Grup 2’de (renal skarı [+]) plazma NGAL düzeyleri

Plazma NGAL (ng/mL)	Grup1 (n:35)	Grup 2 (n:52)	p
Ortalama	73.51	81.87	0.366
Ortanca	60	60	
Standart sapma	27.02	56.94	
Min. Değer	60	60	
Max. Değer	181	409	

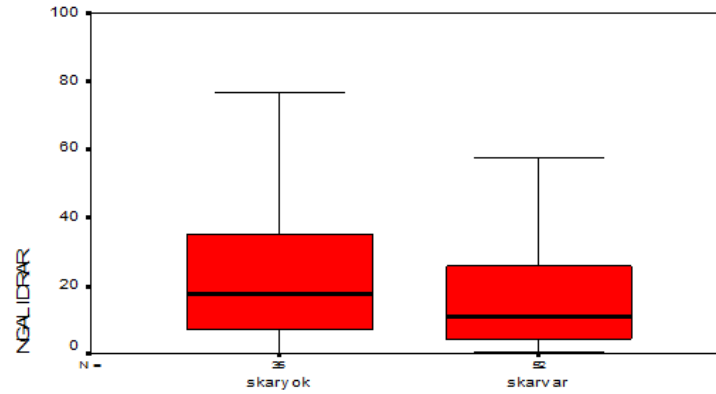
Şekil 15: Gruplar arası plazma NGAL düzeylerinin karşılaştırılması



Tablo 7: Grup 1 (renal skarı [-]) ve Grup 2’de (renal skarı [+]) idrar NGAL düzeyleri.

İdrar NGAL (ng/mL)	Grup1 (n:35)	Grup 2 (n:52)	p
Ortalama	25.56	39.67	0.299
Ortanca	17.7	10.95	
Standart sapma	28.55	70.82	
Min. Değer	0.5	0.7	
Max. Değer	119.2	326.4	

Şekil 16: Gruplar arası idrar NGAL düzeylerinin karşılaştırılması



Grup 2 hastalarda idrar NGAL değeri kızlarda erkeklerde göre daha yüksek bulunmuştur (Tablo 8).

Tablo 8: Grup 2 (renal skarı olan) grupta cinsiyete göre idrar NGAL düzeyleri

İdrar NGAL (ng/mL)	Erkek (n:8)	Kız (n:44)	p
Ortalama	2.72	46.4	<0.05
Ortanca	2.6	13.2	
Standart sapma	1.16	75.15	
Min. Değer	1.2	0.7	
Max. Değer	5	326.4	

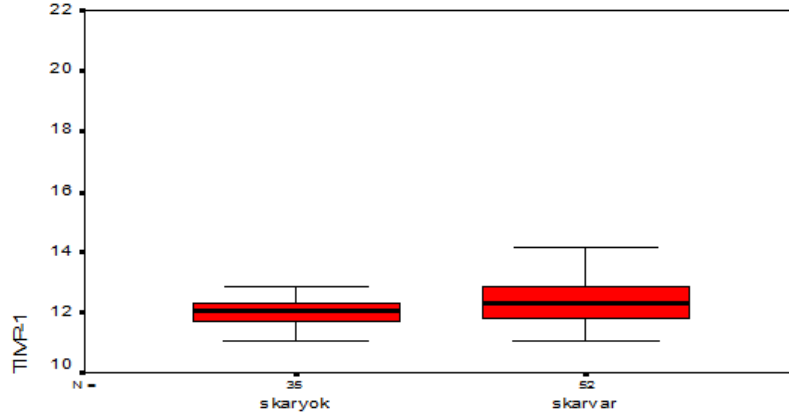
4.1.2. İdrar TIMP-1 ve MMP-9 düzeyi:

Grup 1 ile Grup 2, idrar TIMP-1 ve idrar MMP-9 düzeyleri açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (p:0.176 ve 0.550)(Tablo 9-10 ve Şekil 17 - 18).

Tablo 9: Grup 1 (renal skarı [-]) ve Grup 2’de (renal skarı [+]) idrar TIMP-1 düzeyleri

İdrar TIMP-1 (ng/mL)	Grup1 (n:35)	Grup 2 (n:52)	p
Ortalama	12.22	12.62	0.176
Ortanca	12.09	12.35	
Standart sapma	0.82	1.52	
Min. Değer	11.08	11.08	
Max. Değer	15.64	20.21	

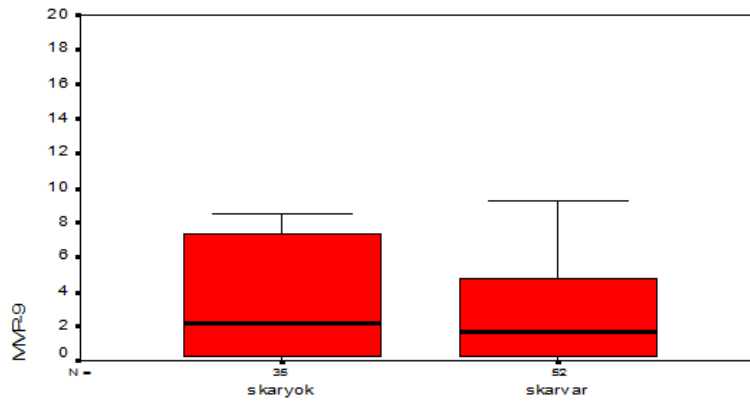
Şekil 17: Gruplar arası idrar TIMP-1 düzeylerinin karşılaştırılması



Tablo 10: Grup 1 (renal skarı [-]) ve Grup 2'de (renal skarı [+]) idrar MMP-9 düzeyleri

İdrar MMP-9 (ng/mL)	Grup1 (n:35)	Grup 2 (n:52)	p
Ortalama	9.78	7.49	0.550
Ortanca	2.14	1.77	
Standart sapma	23.96	19.38	
Min. Değer	0.10	0.09	
Max. Değer	121.11	127.98	

Şekil 18: Gruplar arası idrar MMP-9 düzeylerinin karşılaştırılması



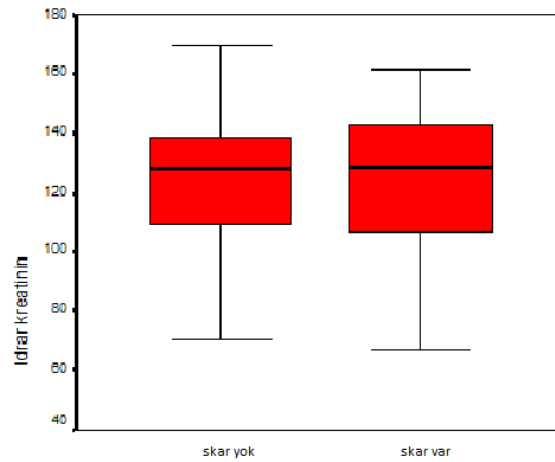
4.1.3. Spot idrar kreatinin düzeyi ve kreatinin klirensi:

Grup 1 ile Grup 2, idrar kreatinin düzeyi ve kreatinin klirensleri açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (p:0.795 ve 0.343)(Tablo 11-12 ve Şekil 19-20).

Tablo 11: Grup 1 (renal skarı [-]) ve Grup 2’de (renal skarı [+]) idrar kreatinin düzeyleri

İdrar Kreatinin (mg/dL)	Grup1 (n:35)	Grup 2 (n:52)	p
Ortalama	124.72	124.38	0.795
Ortanca	128.13	128.72	
Standart sapma	22.79	25.83	
Min. Değer	69.96	66.7	
Max. Değer	169.72	161.73	

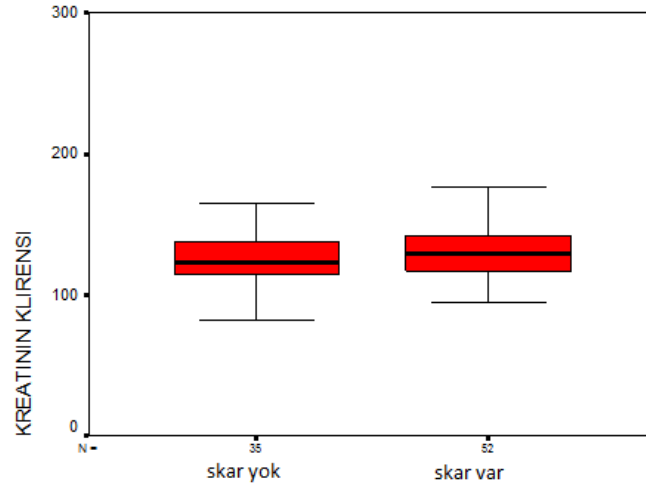
Şekil 19: Gruplar arası idrar kreatinin düzeylerinin karşılaştırılması



Tablo 12: Grup 1 (renal skarı [-]) ve Grup 2’de (renal skarı [+]) kreatinin klirensleri

Kreatinin klirensi	Grup1 (n:35)	Grup 2 (n:52)	p
Ortalama	126.44	132.52	0.343
Ortanca	123	129.44	
Standart sapma	20.05	24.93	
Min. Değer	82.5	95.6	
Max. Değer	176	255	

Şekil 20: Gruplar arası kreatinin klirenslerinin karşılaştırılması



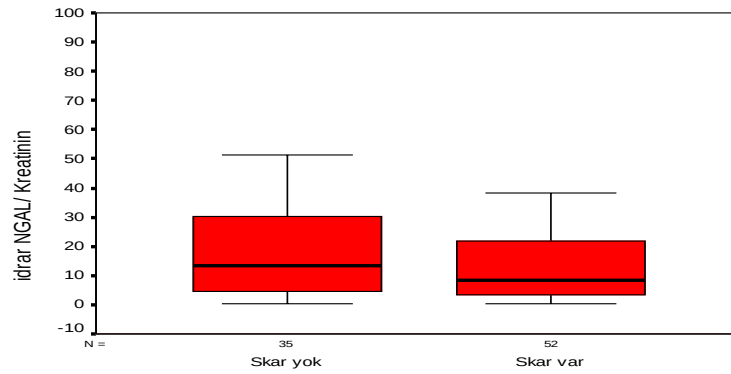
4.1.4. İdrar NGAL/ kreatinin oranı

Grup 1 ile Grup 2, idrar NGAL/ kreatinin oranı açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (p:0.287)(Tablo 13 ve Şekil 21).

Tablo 13: Grup 1 (renal skarı [-]) ve Grup 2’de (renal skarı [+]) idrar NGAL/kreatinin oranları

İdrar NGAL/kre (ng/mg kreatinin)	Grup1 (n:35)	Grup 2 (n:52)	p
Ortalama	22	36	0.287
Ortanca	13	8.3	
Standart sapma	27	69	
Min. Değer	0.4	0.5	
Max. Değer	132.7	296.2	

Şekil 21: Gruplar arası idrar NGAL/ kreatinin oranının karşılaştırılması



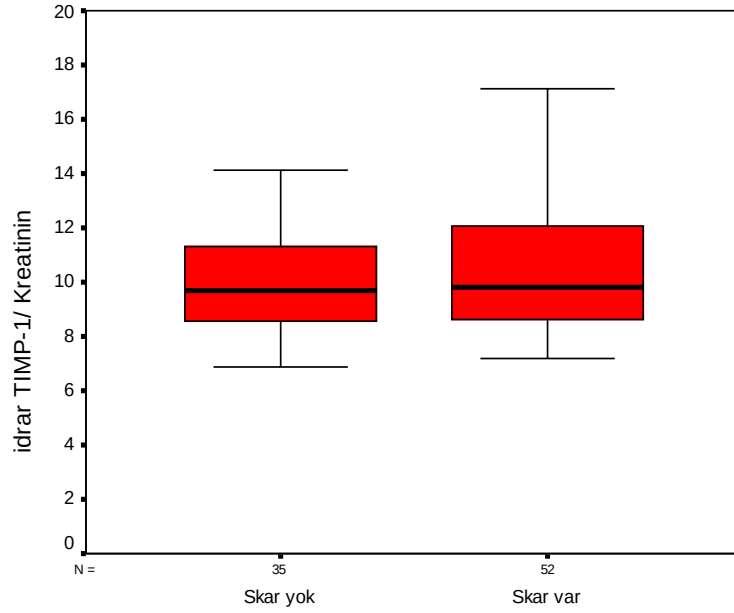
4.1.5. İdrar TIMP-1 / kreatinin oranı:

Grup 1 ile Grup 2, idrar TIMP-1 / kreatinin oranı açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (p:0.769)(Tablo 14 ve Şekil 22).

Tablo 14: : Grup 1 (renal skarı [-]) ve Grup 2’de (renal skarı [+]) idrar TIMP-1 / kreatinin oranları

İdrar TIMP-1/kre (ng/mg kreatinin)	Grup1 (n:35)	Grup 2 (n:52)	p
Ortalama	10	10	0.769
Ortanca	9.7	9.7	
Standart sapma	2.3	3.2	
Min. Değer	6.9	7.2	
Max. Değer	16.9	22.9	

Şekil 22: Gruplar arası idrar TIMP-1/ kreatinin oranının karşılaştırılması



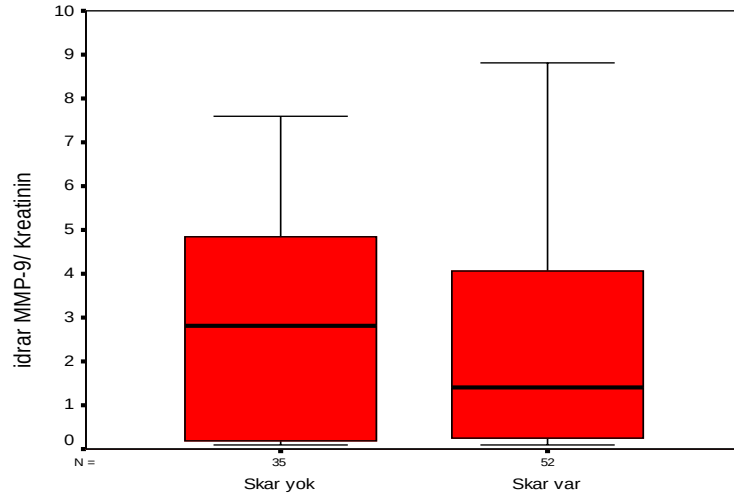
4.1.6. İdrar MMP-9 / kreatinin oranı:

Grup 1 ile Grup 2, idrar MMP-9 / kreatinin oranı açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (p:0.716) (Tablo 15 ve Şekil 23).

Tablo 15: : Grup 1 (renal skarı [-]) ve Grup 2’de (renal skarı [+]) idrar MMP-9 / kreatinin oranları

İdrar MMP-9/kre (ng/mg kreatinin)	Grup1 (n:35)	Grup 2 (n:52)	p
Ortalama	8	7	0.716
Ortanca	2.8	1.4	
Standart sapma	22	23	
Min. Değer	0.1	0.1	
Max. Değer	112.5	163.3	

Şekil 23: Gruplar arası idrar MMP-9 / kreatinin oranının karşılaştırılması



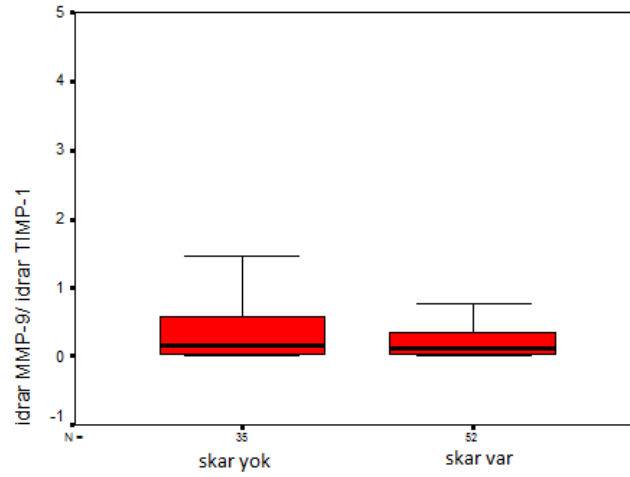
4.1.7. İdrar MMP-9/TIMP-1 oranı:

Grup 1 ile Grup 2, idrar MMP-9/TIMP-1 oranı açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (p:0.494) (Tablo 16 ve Şekil 24).

Tablo 16: Grup 1 (renal skarı [-]) ve Grup 2’de (renal skarı [+]) idrar MMP-9/TIMP-1 oranları

İdrar MMP-9/ TIMP-1	Grup1 (n:35)	Grup 2 (n:52)	p
Ortalama	0.81	0.62	0.494
Ortanca	0.18	0.14	
Standart sapma	2	1.7	
Min. Değer	0.01	0.1	
Max. Değer	10.02	0.01	

Şekil 24: Gruplar arası idrar MMP-9/TIMP-1 oranının karşılaştırılması



4.2. Vezikoüreteral reflü varlığının çalışılan parametreler üzerine etkisi:

4.2.1. Renal skar (-) olan hastalar;

Grup 1 VÜR(+) ve VÜR(-) hastalar arasında idrar ve plazma NGAL ve idrar TIMP-1 düzeyleri açısından anlamlı farklılık saptanmazken (p sırasıyla 0.810 , 0.492 ve 0.697) VÜR(-) olan grupta idrar MMP-9 düzeyi daha yüksek bulunmuştur (p:0.042) (Tablo 17).

Tablo 17: Grup 1 (renal skar olmayanlar) VÜR(-) ve (+) hastaların karşılaştırılması

Parametre (ortalama değerleri ng/mL)	VÜR(-) (n:26)	VÜR(+) (n:9)	P
plazma NGAL	69.4	85.3	0.492
idrar NGAL	22.6	33.9	0.810
idrar TIMP-1	12.2	12.2	0.697
idrar MMP-9	12.5	1.8	0.042

4.2.2. Renal skar (+) olan hastalar;

Grup 2 VÜR(+) ve VÜR(-) hastalar arasında plazma NGAL, idrar TIMP-1 ve idrar MMP-9 düzeyleri açısından anlamlı farklılık saptanmazken (p sırasıyla 0.212 , 0.925 ve 0.852) VÜR(-) olanlarda idrar NGAL düzeyi anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p:0.016) (Tablo 18).

Tablo 18: Grup 2 (renal skarı olanlar) VÜR(-) ve (+) hastaların karşılaştırılması

Parametre (ortalama değerleri ng/mL)	VÜR(-) (n:21)	VÜR(+) (n:31)	P
plazma NGAL	92	74.9	0.212
idrar NGAL	66.6	21.4	0.016
idrar TIMP-1	12.7	12.5	0.925
idrar MMP-9	6.2	8.3	0.852

4.3.KORELASYON ANALİZLERİ

Tablo 19: Grup 2 (renal skarı olan) hastalarda biyokimyasal parametrelerin birbirleri ile korelasyonları

		İDRAR NGAL	PLAZMA NGAL	İDRAR TIMP-1	İDRAR MMP-9
İDRAR NGAL	r		0.083	0.209	-0.123
	p		0.557	0.138	0.384
PLAZMA NGAL	r			0.148	-0.098
	p			0.296	0.490
İDRAR TIMP-1	r				-0.168
	p				0.233

Tablo 19’da da gösterildiği gibi çalışılan parametreler arasında anlamlı korelasyon tespit edilememiştir.

BEŞİNCİ BÖLÜM

5.TARTIŞMA

İdrar yolu enfeksiyonları çocukluk çağında üst solunum yolu enfeksiyonlarından sonra en sık görülen enfeksiyonlardır. İYE etken mikroorganizmanın kolonize olduğu bölgeye göre piyelonefrit, sistit ve üretrit gibi değişik isimler alır. Tüm yaş grupları dikkate alındığında İYE kızlarda %3-5, erkeklerde %1 oranında görülmektedir ¹². Erkek çocuklarda akut piyelonefrit sıklıkla ilk bir yaşta karşımıza çıkmakta, bu yaş döneminden sonra ise kızlarda daha sık olarak görülmektedir. Çalışmamızdaki hastaların büyük çoğunluğu (%84) kızlardan oluşmakta idi.

Akut pyelonefrit tanısı için altın standart DMSA sintigrafisi ile yapılan görüntülemedir. Ancak, akut piyelonefrit tanısı geleneksel olarak klinik (⁰C ateş) ve laboratuvar (piyüri, anlamlı bakteriüri ve akut faz yanıtında artış) bulguları ile konulur ⁸². Yakın zamanlarda yayınlanan rehberlerde İYE'nin lokalize edilmesi için akut dönemde rutin görüntüleme uygulaması önerilmemektedir ⁸³. Bu nedenle DEÜTF Çocuk Nefroloji kliniğinde izlenen ve çalışmamıza alınmış olan hastalara akut İYE sırasında DMSA sintigrafisi yapılmamıştır.

Piyelonefrit düşünülen hastalarda erken dönemde yapılacak radyolojik görüntülemelerin amacı hidronefroz gibi komplikasyonlara yol açabilecek patolojileri belirlemek (USG) ya da piyelonefrit tanısının şüpheli olduğu vakalarda renal parankimal inflamasyonu göstermektir (DMSA) ^{3,74}. Ayrıca vezikoüreteral reflü varlığını göstermek için 2-4 hafta içerisinde VCUG yapılabilir. Renal skar oluşumu, özellikle vezikoüreteral reflünün eşlik ettiği idrar yolu enfeksiyonlarının ciddi bir komplikasyonudur ve bu birliktelik kronik böbrek yetmezliği ile sonuçlanabilir.

Uzun vadede renal parankimal hasar (skar) varlığını göstermek için yapılacak görüntüleme yöntemi ise DMSA sintigrafisidir. DMSA sintigrafisi enfeksiyonun ve renal parankimal skar varlığının saptanmasında en duyarlı ve altın standart olarak kabul edilen görüntüleme yöntemidir ⁸⁴. APN tanısı alan çocuklarda erken dönemde yapılan DMSA sintigrafisinde %50-85 oranında renal parankimde bozukluk olduğu gösterilmiştir ^{78,79}. Ateşli İYE geçirdikten sonra ortaya çıkan kalıcı renal parankimal skar görülme oranı ise %8-63 oranında bildirilmektedir.

Hastalarımızda kalıcı renal parankimal skarı göstermek için enfeksiyonun kanı sonrası yapılan DMSA sintigrafilerinde 52 olguda (%60) renal parankimal skar saptanmıştır. Renal parankimal skar gelişimi geri dönüşümsüz böbrek hasarı ve buna bağlı ortaya çıkabilecek hipertansiyon, gebelik komplikasyonları ve böbrek fonksiyonlarında ilerleyici bozulma gibi uzun dönem komplikasyonlara neden olabilir. Son dönem böbrek yetmezliği gelişen çocukların yaklaşık %24'ünde etiyolojiden reflü nefropati sorumludur ⁸⁵. Akut piyelonefritin erken tanı ve tedavisi ile bu komplikasyonlar önlenabilmektedir ²⁸.

Renal skar gelişimi ile İYE'nin geçirildiği yaş arasında bağlantı araştırılmıştır ^{27,28,79}. Martinell ve ark. bir yaşından küçük hastalarda skar riskinin yüksek olduğunu, 5 yaşından büyük hastalarda ise bu riskin azaldığını ileri sürmüşlerdir ²⁷. Öte yandan, farklı çalışmalarda APN tanısı alan çocuklarda renal hasar gelişiminin yaş ile bağlantılı olmadığı, inflamasyon

şiddeti ve etkilenen böbrek hacminin skar gelişiminde daha etkili olduğu bildirilmiştir²⁸. Çalışmamızda renal skarı olan ve olmayan hastalar arasında yaş farkı saptanmamıştır.

DMSA sintigrafisi renal skarı göstermede güvenilir olmakla birlikte radyasyon maruziyeti, invazif olması, küçük çocuklarda sedasyon gerektirmesi ve yüksek maliyet gibi olumsuz yanları bulunmaktadır. Bu nedenle renal skarın saptanmasına yönelik farklı yaklaşımlar üzerinde durulmuştur^{33,86,87}. Pecile ve ark. eritrosit çökme hızı ve CRP yüksekliği ile renal parankimal skar gelişimi arasında korelasyon varlığını göstermişlerdir; ancak CRP'nin skarı göstermedeki sensitivitesi yüksek, spesifitesi düşük bulunmuştur⁸³. Benador ve ark. da benzer sonuçlara ulaşmışlardır⁸⁶. DMSA sintigrafisinde bulgu olan ve olmayan hastaların incelendiği başka bir çalışmada akut faz reaktanları açısından karşılaştırıldığında her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır⁸⁷. Bu sonuçlar DMSA sintigrafisinde ortaya çıkan bulguları önceden tahmin etmede beyaz küre sayısının, EÇH'nin ve CRP'nin anlamlı olmadığını düşündürmektedir. Bununla birlikte, prokalsitoninin hem akut pyelonefriti hem de kalıcı renal parankimal hasarı göstermede diğer akut faz reaktanlarından daha değerli olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır^{88,89}.

Son yıllarda akut böbrek hasarının erken dönem göstergesi olarak üzerinde çalışılan bir protein de lipokalin aile üyesi olan nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (NGAL veya Lipokalin 2)'dir. Akut böbrek hasarının tanımlanmasında kullanılan mevcut biyokimyasal parametrelerin (serum kreatinin düzeyi gibi) erken tanı koymada yetersiz kalması nedeni ile son yıllarda yeni biyobelirteçlere olan ihtiyaç artmıştır⁹⁰. Bu konuda akut böbrek hasarı için yeni biyobelirteçlerden beklentiler, hasarın lokalizasyonu (proksimal tübül, distal tübül, interstisyum, vasküler yapılar), süresi (akut, kronik), prerenal, renal veya postrenal ayrımı, etiyoloji ayrımı (iskemi, toksin, sepsis) akut böbrek hasarını diğer böbrek hastalıklarından ayırma (üriner trakt enfeksiyonu, glomerülonefrit, interstitial nefrit); risk ve prognoz belirleme; hasara yönelik girişimlerin monitorizasyonudur. Analitik beklentiler ise, noninvazif ve kolayca elde edilen, kan veya idrar örneğinde yatak başında veya standart klinik laboratuvarlarda uygulanabilir, yüksek duyarlılıkta olup erken teşhisi kolaylaştırmalıdır⁹¹.

Bu beklentilerin çoğunu karşılayan NGAL geni, akut iskemik ve nefrotoksik hasar sonrası kreatininiden önce kısa sürede böbrekte en fazla eksprese olan gen olarak gösterilmiştir⁹²⁻⁹⁴.

NGAL üretimi renal epitelyum hasarı veya inflamasyonuna cevap olarak hızla artmaktadır. Akut böbrek hasarı sonrasında plazma ve idrarda NGAL düzeyinin sırası ile 10 ve 100 kat yükseldiği, böbrek dokusunda da NGAL mRNA'sının 1000 kat arttığı gösterilmiştir⁹⁵. Hasar sonrası NGAL düzeylerindeki bu erken yükselişin özellikle kardiyak cerrahi girişimler sonrası gelişen akut böbrek hasarının erken tanımlanmasına olanak sağladığı bir çok çalışmada gösterilmiştir.

Kardiyak cerrahi sonrası gelişen böbrek hasarında kreatinin ve NGAL düzeylerindeki yükselmelerin kıyaslandığı bir çalışmada, operasyon sonrası NGAL düzeyleri altıncı saatte pik yaparken, kreatinindeki yükselmenin ikinci günde başladığı gözlenmiştir⁹⁶.

Bununla birlikte, NGAL düzeyleri sadece akut böbrek hasarında değil, kronik böbrek hastalığında ve kronik böbrek hasarının akut kötüleşmesinde de öngörü değerine sahiptir^{64,97}. Yine deneysel piyelonefrit oluşturulan sıçanlarda NGAL düzeylerinin akut dönemde çok

yükseldiği, daha sonra düştüğü, ancak yine de yüksek seviyelerde seyrettiği ve 6 hafta sonra skar oluştuğunda bile yüksek kaldığı bildirilmiştir⁹⁸. Serum ve idrar NGAL düzeylerinin kronik böbrek yetersizliği olgularında devam eden hasarın bir göstergesi olduğu “orman yangını teorisi” ile dile getirilmiştir. Bu teoriye göre serum kreatinin düzeyi veya GFR fonksiyonel nefron sayısını temsil etmekte, ancak altta yatan süregelen hasarı gösterememektedir. Serum ve idrar NGAL düzeyleri ise böbrekteki aktif lezyonun şiddetini gösterebilmektedir⁴⁴.

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, idrar NGAL düzeyinin VÜR’ü olan çocuklarda sağlıklı çocuklara göre daha yüksek olduğu, NGAL düzeyinin VÜR derecesinden etkilenmediği ve renal skarı olan VÜR’lü çocuklarda NGAL düzeyindeki artışın daha belirgin olduğu rapor edilmiştir⁹⁹. Bizim çalışmamızda sağlıklı çocuklardan oluşan bir kontrol grubu kullanılmamıştır. Bunun yerine İYE nedeni ile izlenen ve renal skar (-) ve (+) hasta grupları yanı sıra VÜR (-) ve (+) hasta grupları da karşılaştırılmıştır. Ayrıca, çalışmamızda hem plazma ve idrar NGAL düzeyleri, hem de idrar NGAL/kreatinin oranları değerlendirilmiştir. Beklemediğimiz bir bulgu olarak skarlı ve VÜR (-) hasta grubunda VÜR (+) gruba göre idrar NGAL düzeylerini yüksek saptamamız dışında renal skar (-) ve (+) gruplar arasında çalışılan parametreler açısından fark saptanmamıştır.

Bununla birlikte renal skar (+) grupta idrar NGAL düzeyleri kızlarda erkeklere göre yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlarla çelişkili olarak Ichino ve ark.’nın çalışmasında VÜR’lü ve skarlı erkek hastalarda NGAL düzeyleri kızlara göre yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada hastaların büyük çoğunluğu erkeklerden oluşmaktadır (34 hastanın 26’sı, %76) ve bu durum İYE geçiren erkek çocuklarda daha ağır konjenital VÜR ve renal displazi olması ile açıklanmıştır⁹⁹. Bizim çalışmamızın büyük çoğunluğunun kızlardan oluşmasının (87 hastanın 73’ü) her iki çalışmanın kıyaslanabilirliğini kısıtladığını düşünüyoruz.

Renal parankimal skar gelişimi pek çok ilerleyici böbrek hastalığı sonucu ortaya çıkan interstisiyel fibrozise bağlı oluşmaktadır. Klinik önemi bilinmesine karşın skar formasyonunun mekanizması halen tartışmalıdır. Renal fibrogenезisin kemokinlerin ve büyüme faktörlerinin salınımıyla indüklendiği düşünülmektedir. Kemokinlerin ve büyüme faktörlerinin salınımından sonra matriks yapımında artış, matriks degradasyonunda azalma ile birlikte ECM komponentlerinin birikimi skar oluşumu ile sonuçlanmaktadır. Ekstraselüler matriks, organların dokularının yapısında ve homeostazisinde anahtar rol oynamaktadır. Günümüzde geçerli olan hipotez yeniden yapılanmanın ve doku iyileşmesinin ESM protein sentezi ve yıkımı arasındaki dengeye bağlı olduğu yönündedir¹⁰⁰. İnflamasyon sırasında ESM’te yıkıma yol açan pek çok proteaz bulunmakta, fakat bunlar içinde yer alan metalloproteinazlar en önemlilerini oluşturmaktadır. Son yıllarda akut piyelonefrit sonrası renal parankimal skar gelişim mekanizmalarının daha iyi anlaşılması nedeniyle bu sistemde rol alan bazı proteinlerin ve enzimlerin erken dönemde skar gelişimi üzerine etkileri incelenmeye başlanmıştır.

Bu amaçla üzerinde çalışılan enzimlerden bazıları da MMP-9 ve TIMP-1’dir. Pek çok hastalık patogeneğinde görev alan MMP-9 ve TIMP-1’in böbrek hastalıklarının patogeneğinde de rol aldığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir.

Böbrek hastalığında MMP-9 ve TIMP-1'in yeri ile hastalık oluşumundaki rolü üzerine birçok çalışma olmasına karşın idrar yolu enfeksiyonları ile ilişkisini ortaya koyan az sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan birinde Chromek ve ark.'ları akut piyelonefritli çocuklarda akut dönemde ve 6 haftalık izlem sonrasında idrar MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerini incelemişlerdir ¹⁰¹. Bu çalışmada kontrol grubu olarak böbrek dışı nedene bağlı ateşi olan çocuklar değerlendirilmiştir. Akut piyelonefritli çocuklarda akut dönemde bakılan idrar MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerinin, hastaların 6 haftalık izlem sonrasındaki değerlerine göre yüksek bulunduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada akut piyelonefritli çocukların akut dönemdeki MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerinin böbrek dışı nedene bağlı ateşi olan çocuklarda saptanan değerlere göre anlamlı yüksek olduğu gösterilmiştir. MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri ile renal parankimal skar gelişimi arasında ilişki araştırıldığında, İdrarda MMP-9'a göre TIMP-1 düzeyi yüksek olanlarda akut ve 6 aylık izlem sonucundaki DMSA görüntülerinde daha ciddi renal hasar olduğu gösterilmiş ve bu sonucun profibrotik bir ajan olan TGF- β 'nın, TIMP-1 sentezini indüklemesine bağlı olabileceğini düşündürmüştür.

Ülkemizde yapılan başka bir çalışmada bu bilgiler doğrultusunda MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri ilk atak akut piyelonefrit tanısı ile hastaneye yatırılan hastalarda araştırılmıştır ¹⁰². Bu çalışmada serum MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmıştır ¹⁰². Akut piyelonefrit geçiren hastalar kendi içlerinde DMSA bulgusu olan ve olmayan hastalar olarak gruplandırılıp serum MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri karşılaştırıldığında DMSA bulgusu olan hastalarla olmayan hastalar arasında anlamlı farklılık olmadığı görülmüştür ¹⁰².

Bu çalışmayla benzer biçimde bizim çalışmamıza katılan 87 hastanın 52'sinde DMSA sintigrafisinde renal skar saptanmıştır. Renal skarlı hastalarda çalışılan idrar MMP-9 ve idrar TIMP-1 düzeyleri incelendiğinde renal skarı olmayan grupla aralarında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Proteaz ve antiproteaz sistemlerin yorumlanmasının çok komplike olması nedeniyle, böbrek dokusunda protez/antiproteaz sistemlerin daha iyi anlaşıldığı ileri çalışmaların bu çalışmanın yorumlanmasına katkı sağlayacağını düşünüyoruz.

Renal parankimal skar etiyolojisindeki rolü tartışılan bir diğer faktör de vezikoüreteral reflü varlığıdır. Vezikoüreteral reflü, çocukluk çağında tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonlarının en önemli nedenlerinden biri olup, enfeksiyon ile birlikteliği renal hasar ile sonuçlanmaktadır. Bu hasar yüksek dereceli reflülerde daha belirgin olup, enfeksiyon geçiren çocuklarda reflünün erken tanısı önemlidir ¹⁹. Piyelonefrit geçiren çocukların %25-40'ında reflü mevcuttur. Tedavi edilmemiş reflü çocukluk çağı yüksek tansiyonun en sık nedenidir ve tedavisiz reflüsü olan çocukların %10 ila 20'sinde böbrek yetmezliği gelişmektedir ²⁰.

Eski çalışmalarda VÜR'ün renal parankimal skar gelişiminde önemli bir risk faktörü olduğu belirtilmekteydi ²¹ ancak son yıllarda son dönem böbrek yetmezliği riskinin VÜR tedavisi ile belirgin olarak azaltılamadığına dair kanıtlar bulunmuş ve bu nedenle renal hasarın sonradan kazanılmayıp intrauterin dönemde var olduğu tezleri öne sürülmüştür ²². Genel olarak bakıldığında ise VÜR'lü çocuklarda görülen APN'lerde gelişen renal parankimal hasarda VÜR'ün önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. İdrar yolu enfeksiyonu geçirmemiş yüksek dereceli VÜR'ü olan süt çocuklarında daha az skar görülürken daha düşük dereceli VÜR'e sahip olup İYE geçiren süt çocuklarında daha fazla skar görüldüğü

gösterilmiştir ²⁴. Bu durum renal skar gelişiminde enfeksiyon ve reflü birlikteliğinin önemini göstermektedir.

Biz çalışmamızda skarlı ve skarsız hastalarda VÜR(+) ve (-) gruplar arasında TIMP-1 düzeyleri açısından fark gözlemlenmezken, skarsız hastalarda VÜR(-) grupta MMP-9 yüksekliği saptadık. Hang ve ark.'larının böbrekteki lökosit akümüülasyonunun skar dokusuyla birlikteliğini gösterdikleri çalışmada idrardaki lökosit düzeylerinin bunu yansıtmadığını gördüler ¹⁰³. Biz de idrar MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerinin her zaman doku konsantrasyonlarını yansıtmayabileceğini düşünüyoruz.

Sonuç olarak, beklentilerimizin aksine bizim çalışmamızın sonuçları NGAL düzeylerinin renal hasar biyobelirteci olarak, MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerinin fibrozis göstergeleri olarak piyelonefrit sonrası oluşan skar dokusunun gelişimi konusunda öngörü değerine sahip olmadığını göstermiştir. Kız ve erkek hastaların eşitlendiği gruplarda, geçirilmiş idrar yolu enfeksiyonlarının sıklığı, skar derecendirilmesi, hastalığın başlangıcı ile sintigrafi yapılma süresi arasındaki zaman diliminin standardize edildiği daha yüksek sayıda hasta popülasyonu ile yapılacak çalışmaların gerekli olduğunu düşünüyoruz.

ALTINCI BÖLÜM

6.KAYNAKLAR

1. Hoberman A, Wald ER. Urinary Tract Infections In Young Febrile Children. The Pediatric Infectious Disease Journal. 1997;16(1):11–7.
2. Apakkan Aksun S, Özmen D, Bayındır O. Metalloproteinases, Their Inhibitors And Related Physiological And Pathological Conditions. Türk Klinik Biyokimya Dergisi 2001;21:332–342.
3. Jantusch B, Kher K. Urinary Tract Infection. In: Avner Ed, Hermon We, Niaudet P. Textbook Of Pediatric Nephrology 5 Th Edition. Philadelphia: Lippincott-Williams And Wilkins. 2004 : 553- 573.
4. Winberg J, Andersen Hj, Bergstrom T, Jacobsson B, Larson H, Lincoln K. Epidemiology Of Symptomatic Urinary Tract Infection In Childhood. Acta Pediatr Scand 1974;(Supl.):1–20.
5. Ronald A. The Etiology Of Urinary Tract Infection. Traditional And Emerging Pathogens. Dis Mon. 2003; 49:71–82.
6. Lidefelt Kj, Erasmie U, Bollgren İ. Residual Urine In Children With Acute Cystitis And In Healthy Children: Assessment By Sonography. J Urol. 1989;141:916–917.
7. Chang S, Shortliffe L. Pediatric Urinary Tract Infections. Pediatr Clin N Am. 2006; 53: 379-400.
8. Pattaragarn A, Alon S. Urinary Tract Infection In Childhood. Minerva Pediatr. 2002; 54: 401-413.
9. American Academy Of Pediatrics, Committe On Quality Improvement, Subcommittee On Urinary Tract Infection. Practice Parameter: The Diagnosis, Treatment, And Evalution Of The İnitial Urinary Tract Infection In Febrile İnfants And Young Children. Pediatrics: 2007(12)3-16
10. Roberts Ja. Etiology And Pathophysiology Of Pyelonephritis. Am J Kidney Dis 1991;17:1–9.
11. Chon C, Lai F, Shortliffe Lm. Pediatric Urinary Tract Infections. Pediatr Clin N Am. 2001; 48: 1441-1459.
12. Elder Js. Urologic Disorders In İnfants And Children. In: Behrman Re, Kliegman Rm, Jenson Hb. Nelson, Textbook Of Pediatrics 17th Edition. Philadelphia: Saunders, 2004 : 1785- 1789.

13. Merguerian Pa, Sverrisson Ef, Herz Db, Mcquiston Lt. Urinary Tract Infections In Children: Recommendations For Antibiotic Prophylaxis And Evaluation. An Evidence-Based Approach. *Curr Urol Rep* 2010; 11:98–108.
14. Jakobsson B, Soderlundh S. Diagnostic Significance Of 99m Tc-Dimercaptosuccinic Acid (Dmsa) Scintigraphy In Urinary Tract Infection. *Arch Dis Child*. 1992; 67: 1338-1342.
15. Benador D, Benador N. Cortical Scintigraphy In The Evaluation Of Renal Parenchymal Changes In Children With Pyelonephritis. *J Pediatr*. 1994; 124: 17-20.
16. Jahnukainen T, Chen M, Celsi G. *Pediatr Nephrol* 2005; 20:1043-1053.
17. Mattoo Tk, Mathews R. Vesicoureteral Reflux And Renal Scarring. In: *Pediatric Nephrology*, 6th Edn, Avner Ed, Harmon We, Niaudet P, Yoshikawa N (Eds). Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2009, Pp1311-1336.
18. Pohl Hg, Ruhton Hg. Urinary Tract Infections In Children. In: *The Kelalis–King–Belman Textbook Of Clinical Pediatric Urology*, 5th Edn, Docimo Sg, Canning Da, Khoury Ae (Eds). Mortimer Street, London 2009, Pp103-1166.
19. Rushton HG. Urinary Tract Infections In Children. *Epidemiology, Evaluation, And Management. Pediatric Clinics Of North America*. 1997;44(5):1133–1169.
20. Bakkaloglu SA, Ekim M, Sever L, et al. Chronic Peritoneal Dialysis In Turkish Children: A Multicenter Study. *Pediatric Nephrology*. 2005;20(5):644–51.
21. Jacobson Sh, Hansson S, Jakobsson B. Vesicoureteric Reflux: Occurence And Long Term Risks. *Acta Paediatr Suppl*. 1999; 88: 22-30.
22. Craig Jc, Irwig Lm, Knight Jf. Does Treatment Of Vesicoureteric Reflux In Childhood Prevent End-Stage Renal Disease Attributable To Reflux Nephropathy?. *Pediatrics*. 2000; 105: 1236-1241.
23. Gobet R, Cisek Lj, Chang B, Barnewolt Ce, Retik Ab, Peters Ca. Experimental Fetal Vesicoureteric Reflux Induces Renal Tubular And Glomerular Damage, And Is Associated With Persistent Bladder Instability. *J Urol*. 1999; 162: 1090-1095.
24. Sweeney B, Cascio S, Velayudham M. Reflux Nephropathy In Infancy: A Comprasion Of Infants Presenting With And Without Urinary Tract Infection. *J Urol*. 2001; 166: 648-650.
25. Marra Gm, Oppezzo C, Ardissino G, Dacco' V, Testa S, Avolio L, Taioli E, Sereni F. Severe Vesicoureteral Reflux And Chronic Renal Failure: A Condition Peculiar To Male Gender? Data From The Italkid. Project. *J Pediatr*. 2004; 144: 677-681.

26. Ataei N, Madani A, Esfahani St, Kejbafzadeh A, Ghaderi O, Jalili S, Sharafi B. Screening For Vesicoureteral Reflux And Renal Scars In Siblings Of Children With Known Reflux. *Pediatr Nephrol.* 2004; 19: 1127-1131.
27. Martinell J, Claesson I, Lidin G. Urinary Infection, Reflux And Renal Scarring In Females Continously Followed For 13-38 Years. *Pediatr Nephrol.* 1995; 9: 131-136.
28. Lin K, Chiu N, Chen M. Acute Pyelonephritis And Sequelae Of Renal Scar In Pediatrics First Febrile Urinary Tract Infection. *Pediatr Nephrol.* 2003; 18: 362-365.
29. Laestadius A, Söderblom T, Aperia A. Developmental Aspect Of Escherichia Coli-Induced Innate Responses In Rat Renal Epithelial Cells. *Pediatr Res.* 2003; 54: 1-6.
30. Joseph J, Darcie A, Shaw K. Diagnosis And Management Of Pediatric Urinary Tract Infection. *Clin Microbiol Rev.* 2005 ;18: 417- 422.
31. Jahnukainen T, Chen M, Celsi G. Mechanisms Of Renal Damage Owing To Infection. *Pediatric Nephrology (Berlin, Germany).* 2005;20(8):1043–1053.
32. Mulvey Ma, Lopez-Boado Ys, Wilson Cl, Roth R, Parks Wc, Heuser J, Hultgren Sj. Induction And Evasion Of host Defenses By Type 1-Piliated Uropathogenic Escherichia Coli. *Science.* 1998; 282: 1494-1497.
33. Hedlundm, Svensson M, Nilsson A, Duan Rd, Svanborg C. Role Of Ceramide-Signalling In Cells Exposed To P-Fimbriated Escherichia Coli. *J Exp Med.* 1996; 183: 1037-1044.
34. Hedlund M, Frendeus B, Wachter C, Hang L, Fischer H, Svanborg C. Type 1 Fimbriae Deliver An Lps- And Tlr-4-Dependent Activation Signal To Cd14 Negative Cells. *Mol Microbiol.* 2001; 39: 542-552.
35. Haraoka M, Hang L, Frendeus B, Godaly G, Burdick M. Neutrophil Recruitment And Resistance To Urinary Tract Infections. *J Infect Dis.* 1999; 180: 1220-1229.
36. Uhlen P, Laestadius A, Jahnukainen. Alpha-Haemolysin Of Uropathogenic E.Coli Induces Ca Oscillations In Renal Epithelial Cells. *Nature.* 2000; 405: 694-697.
37. Lorenz E, Mira Jp, Frees Kl, Schawrtz Da. Relevance Of Mutations In The Tlr4 Receptor In patients With Gram-Negative Septic Shock. *Archintern Med.* 2002; 162: 1028-1032.
38. Godaly G, Hang L, Frendeus B, Svanorg C. Transepithelial Neutrophil Migration Is Cxcr1 –Dependent In Vitro and Is Defective In Il-8 Receptor Mutant Mice. *J Immunol.* 2000; 165: 5287-5294.

39. Hang L, Frendeus B, Godaly G. IL-8 receptor Knockout Mice Have Subepithelial Neutrophil Entrapment And Renal Scarring Following Acute Pyelonephritis. *J Infect Dis.* 2000; 182: 1738-1748.
40. Gbadegesin Ra, Cotton Sa, Coupes Bm. Plasma and Urinary Soluble Adhesion Molecule Expression is increased During First Documented Acute Pyelonephritis. *Arch Dis Child.* 2002; 86: 218-221.
41. Flower D. The Lipocalin Protein Family : Structure And Function. *Biochem. J.* 196AD;318:1–14.
42. Cowland Jb, Borregaard N. Molecular Characterization and Pattern Of Tissue Expression Of The Gene For Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin From Humans. *Genomics* 1997; 45: 17-23.
43. Devarajan P. Devarajan P. Review: Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin: A Troponin-Like Biomarker For Human Acute Kidney Injury. *Nephrology (Carlton)* 15:419-428, 2010. *Nephrology (Carlton, Vic.).* 2010;15(4):419–428.
44. Mori K, Nakao K. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin As The Real-Time Indicator Of Active Kidney Damage. *Kidney Int* 71:967-970, 2007.
45. Krane A. Mike's Hike For The Blind. *American Rehabilitation.* 2010;1(2):24–5.
46. Flo Th, Smith Kd, Sato S et al. Lipocalin 2 Mediates An Innate Immune Response To Bacterial Infection By Sequestering Iron. *Nature* 2004; 432: 917–921.
47. Supavekin S, Zhang W, Kucherlapati R, Kaskel Fj, Moore Lc, Devarajan P. Differential Gene Expression Following Early Renal Ischemia/Reperfusion. *Kidney Int* 63:1714-1724, 2003.
48. Mishra J, Ma Q, Prada A, Mitsnefes M, Zahedi K, Yang J, Barasch J, Devarajan P. Identification Of Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin As A Novel Early Urinary Biomarker For Ischemic Renal Injury. *J Am Soc Nephrol* 14:2534-2543, 2003.
49. Rushton Hg. Vesicoureteral Reflux And Scarring. In: Avner Ed, Harmon We, Niaudet P, Eds. *Pediatric Nephrology (5th Edn).* Philadelphia: Lippincott Williams And Wilkins; 2004. Pp1027-1048.
50. Chromek M, Tullus K, Hertting O, et al. Matrix Metalloproteinase-9 And Tissue Inhibitor Of Metalloproteinases-1 In Acute Pyelonephritis And Renal Scarring. *Pediatric Research.* 2003;53(4):698–705.

51. Bolignano D, Donato V, Lacquaniti A, Fazio Mr, Bono C, Coppolino G, Buemi M. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (Ngal) In Human Neoplasias: A New Protein Enters The Scene. *Cancer Lett* 288:10-16, 2010.
52. Ronco P, Lelongt B. Matrix Metalloproteinases In Kidney Disease Progression And Repair: A Case Of Flipping The Coin. *Semin Nephrol.* 2007; 27: 352-362.
53. Mccawley Lj, Matrisian Lm. Matrix Metalloproteinases: They're Not Just For Matrix Anymore!. *Curr Opin Cell Biol.* 2001; 13: 534-540.
54. Ravanti L Kv. Matrix Metalloproteinases In Wound Repair(Review). *Int J Mol Med.* 2000; 6: 391-407.
55. Martin J, Eynstone L, Davies M. Induction Of Metalloproteinases By Glomerular Mesangial Cells Stimulated By Proteins Of Extracellular Matrix. *J Am Soc Nephrol.* 2001; 12: 88-96.
56. Parks W, Wilson C, Boado Y. Matrix Metalloproteinases As Modulators Of Inflammation And Innate Immunity. *Immunology.* 2004; 4: 617-629.
57. Nee Le, Mcmorrow T. Tnf- α And Il-1 β Mediated Regulation Of Mmp-9 And Timp-1 In Renal Proximal Tubular Cells. *Kidney Int.* 2004; 66: 1376-1386.
58. Duymelinck C, Dauwe She, De Greef Kej. Timp-1 Gen Expression And Pai-1 Antigen After Unilateral Ureteral Obstruction In The Adult Male Rat. *Kidney Int.* 2000; 58: 1186-1201.
59. Akiyama K, Shikata K, Sugimoto H, et al. Changes In Serum Concentrations Of Matrix Metalloproteinases, Tissue Inhibitors Of Metalloproteinases And Type Iv Collagen In Patients With Various Types Of Glomerulonephritis. *Research Communications In Molecular Pathology And Pharmacology.* 2004;348(1-2):189-97.
60. Endo T, Nakabayashi K, Sekiuchi M, Kuroda T, Soejima A, Yamada A. Matrix Metalloproteinase-2, Matrix Metalloproteinase-9, And Tissue Inhibitor Of Metalloproteinase-1 In The Peripheral Blood Of Patients With Various Glomerular Diseases And Their Implication In Pathogenetic Lesion: Study Based On An Enzyme-Linked Assay And Immunohistochemical Staining. *Clin Exp Nephrol.* 2006;10:253-61.
61. Nakamura T, Ushiyama C, Suzuki S. Elevation Of Serum Levels Of Metalloproteinase-1, Tissue Inhibitor Of Metalloproteinase-1 And Type Iv Collagen, And Plasma Levels Of Metalloproteinase-9 In Polycystic Kidney Disease. *Am J Nephrol.* 2000; 20: 32-36.
62. Akiyama K, Shikata K, Sugimoto H, et al. Changes In Serum Concentrations Of Matrix Metalloproteinases, Tissue Inhibitors Of Metalloproteinases And Type Iv Collagen In

- Patients With Various Types Of Glomerulonephritis. *Research Communications In Molecular Pathology And Pharmacology*. 1997;95(2):115–28.
63. Cotton S, Gbadegesin R, Williams S. Role Of Tgf-B1 In Renal Parenchymal Scarring Following Childhood Urinary Tract Infection. *Kidney Int*. 2002: 61; 61-67.
 64. Thrailkill KM, Moreau CS, Cockrell GE, et al. Disease And Gender-Specific Dysregulation Of Ngal And Mmp-9 In Type 1 Diabetes Mellitus. *Endocrine*. 2010;37(2):336–43.
 65. Circulating Levels Of Matrix Metalloproteinase-9 (Mmp-9) Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (Ngal) And Their Complex Mmp-9/Ngal In Breast Cancer Disease , Provatopoulou X, Gounaris A, Kalogera E, Zagouri F, Flessas I, Nonni A, Papassotiriou et al. *BMC Cancer*. 2009 4;9:390.
 66. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (Ngal) And Matrix Metalloproteinase-9 (Mmp-9) Prognostic Value In Stage I Colorectal Carcinoma. Barresi V, Reggiani-Bonetti L, Di Gregorio C, Vitarelli E, Ponz De Leon M, Barresi G. *Pathol Res Pract*. 2011. 15;20.
 67. Gomez, D.E., et al., Tissue Inhibitors Of Metalloproteinases: Structure, Regulation And Biological Functions. *Eur J Cell Biol*, 1997. 74(2): P. 111-22.
 68. Greene, J., et al., Molecular Cloning And Characterization Of Human Tissue Inhibitor Of Metalloproteinase 4. *J Biol Chem*, 1996. 271(48): P. 30375-80.
 69. Lambert, E., et al., Timp As Multifacial Proteins. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2004. 49(3): P. 187-98.
 70. Garnett, M.C. And R.W. Baldwin, An Improved Synthesis Of A Methotrexate-Albumin-791t/36 Monoclonal Antibody Conjugate Cytotoxic To Human Osteogenic Sarcoma Cell Lines. *Cancer Res*, 1986. 46(5): P. 2407-12.
 71. Murphy, G., et al., The N-Terminal Domain Of Tissue Inhibitor Of Metalloproteinases Retains Metalloproteinase Inhibitory Activity. *Biochemistry*, 1991. 30(33): P. 8097-102.
 72. Luparello, C., et al., Tissue Inhibitor Of Metalloprotease (Timp)-1 And Proliferative Behaviour Of Clonal Breast Cancer Cells. *Breast Cancer Res Treat*, 1999. 54(3): P. 235-44.
 73. Moller Sorensen, N., et al., Biology And Potential Clinical Implications Of Tissue Inhibitor Of Metalloproteinases-1 In Colorectal Cancer Treatment. *Scand J Gastroenterol*, 2008. 43(7): P. 774-86.

74. Belman Ab. Vezicoureteral Reflux. *Ped Clin North Am.* 1997; 44: 1771-1190.
75. Stokland E, Hellstrom M, Jacobsson B, Jodal U. Early 99m-Tc Dimercaptosuccinic Acid (Dmsa) Scintigraphy In Symptomatic First Time Urinary Tract Infection. *Acta Paediatr.* 1996 ; 85 : 430-436.
76. Piepsz A, Blafox Md, Gordon I. Consensus On Renal Cortical Scintigraphy In Children With Urinary Tract Infection. Scientific Committes Of Radionuclides In Nephrourology. *Semin Nucl Med.* 1999; 29: 160-174.
77. Ridson Ra, Godley MI, Parkhouse Hf. Renal Pathology And The 99m Tc-Dmsa Image During The Evolution Of The Early Pyelonephritic Scar: An Experimental Study. *J Urol.* 1994; 151: 767-773.
78. Hiroaoka M, Hashimoto G. Early Treatment Of Urinary Infection Prevents Renal Damage On Cortical Scintigraphy. *Ped Nephrol.* 2003; 18: 115-118.
79. Benador D, Benador N, Slosman D. Are Younger Children At Highest Risk Of Renal Sequel After Pyelonephritis?. *Lancet.* 1997; 4: 17-19.
80. Smith T, Gordon I, Kelly Jp. Comprasion Of Radiation Does From Intravenous Urography And 99tcm Dmsa Scintigraphy In Children. *Br J Radiol.* 1998; 71: 314-319.
81. Ditchfield Mr, Summerville D, Grimwood K. Time Course Of Transient Cortical Scintigraphic Defects Associated With Acute Pyelonephritis. *Pediatr Radiol.* 2002; 31: 849-852.
82. Hewitt Ik, Zucchetta P, Rigon L, Maschio F, Molinari Pp, Tomasi L, Toffolo A, Pavanello L, Crivellaro C, Bellato S, Montini G. Early Treatment Of Acute Pyelonephritis In Children Fails To Reduce Renal Scarring: Data From The Italian Renal Infection Study . *Pediatrics.* 2008 ;122(3):486-90.
83. Tullus K. What Do The Latest Guidelines Tell Us About Utis In Children Under 2 Years Of Age. *Pediatr Nephrol* 2012;27:509-511.
84. Chiou Y, Wang S, Tang M. Renal Fibrosis: Prediction From Acute Pyelonephritis Focus Volume Measured At 99m Tc Dimercaptosuccinic Acid Spect. *Radiology.* 2001; 221: 366- 370.
85. Webb N, Brenchley P. Cytokines And Cell Adhesion Molecules In The Inflammatory Response During Acute Pyelonephritis. *Nephron Experimental Nephrology.* 2004; 96: E1-E6.
86. Benador N, Siegrist Ca, Gendrel D. Procalcitonin Is A Marker Of Severity Of Renal Lesions In Pyelonephritis. *Pediatrics.* 1998; 102: 1422-1425.

87. Lee Yj, Lee Jh, Park Ys. Risk Factors For Renal Scar Formation In Infants With First Episode Of Acute Pyelonephritis: A Prospective Clinical Study. *J Urol*. 2012 187:1032-6.
88. Endo T, Nakabayashi K, Sekiuchi M, et al. Matrix Metalloproteinase-2, Matrix Metalloproteinase-9, And Tissue Inhibitor Of Metalloproteinase-1 In The Peripheral Blood Of Patients With Various Glomerular Diseases And Their Implication In Pathogenetic Lesions: Study Based On An Enzyme-Linked Assay A. *Clinical And Experimental Nephrology*. 2006;10(4):253–61.
89. Bressan S, Andreola B, Zucchetta P, Montini G, Burei M, Perilongo G, Da Dalt L. Procalcitonin As A Predictor Of Renal Scarring In Infants And Young Children. *Pediatr Nephrol* 2009;24:1199-204.
90. Malyszko J. Biomarkers Of Acute Kidney Injury Indifferent Clinical Settings: A Time To Change The Paradigm *Kidney Blood Press Res* 2010;33:368–382.
91. Parikh Cr, Devarajan P. New Biomarkers Of Acute Kidney Injury. *Crit. Care Med*. 2008; 36 : 159–65.
92. Mori K, Nakao K. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin As The Real-Time Indicator Of Active Kidney Damage. *Kidney International*. 2007;71(10):967–970.
93. Mishra J et al. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin: A Novel Early Urinary Biomarker For Cisplatin Nephrotoxicity. *Am J Nephrol* 2004; 24: 307-315.
94. Nickolas Tl, Barasch J, Devarajan P. Biomarkers In Acute And Chronic Kidney Disease. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens*. 2008; 17:127–32.
95. Yuen Pst, Jo S-K, Holly Mk et al. Ischemic And Nephrotoxic Acute Renal Failure Are Distinguished By Their Broad Transcriptomic Responses. *Physiol. Genomics* 2006; 25: 375–86.
96. Chirag R. Parikh, Prasad Devarajan, Michael Zappitelli, Kyaw Sint, Heather Thiessen-Philbrook, Simon Li, Richard W. Kim, Jay L. Koyner Postoperative Biomarkers Predict Acute Kidney Injury And Poor Outcomes After Pediatric Cardiac Surgery. *Am Soc Nephrol*. 2011;22(9):1737-47.
97. Mitsnefes MM, Kathman TS, Mishra J, et al. Serum Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin As A Marker Of Renal Function In Children With Chronic Kidney Disease. *Pediatric Nephrology (Berlin, Germany)*. 2007;22(1):101–108.
98. Ichino M, Kuroyanagi Y, Kusaka M, et al. Increased Urinary Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin Levels In A Rat Model Of Upper Urinary Tract Infection. *The Journal Of Urology*. 2009;181(5):2326–2331.

99. Urinary Neutrophil-Gelatinase Associated Lipocalin Is A Potential Noninvasive Marker For Renal Scarring In Patients With Vesicoureteral Reflux Manabu Ichino,* Mamoru Kusaka, Yoko Kuroyanagi, Terumi Mori, Masashi Morooka, Hitomi Sasaki, Ryoichi Shiroki. J Urol. 2010;183(5):2001-7.
100. Eddy Aa. Molecular Basis Of Renal Fibrosis. *Pediatr Nephrol*. 2000; 15: 290-301.
101. Chromek M, Tullus K, Hertting O, et al. Chromek M, Tullus K, Hertting O, Jaremko G, Khalil A, Li Yh, Brauner A. Matrix Metalloproteinase-9 And Tissue Inhibitor Of Metalloproteinases-1 In Acute Pyelonephritis And Renal Scarring. *Pediatr Res* 53:698-705, 2003. *Pediatric Research*. 2003;53(4):698–705.
102. Kavaz A. Akut Piyelonefrit, Matriks Metalloproteinaz-9, Metalloproteinaz Doku İnhibitörü Tip-1 Ve Hyaluronik Asit Arasındaki İlişkinin İncelenmesi. Ankara Üni. Çocuk Hastalıkları . 2007.
103. Hang L, Haraoka M, Agace WW, et al. Macrophage Inflammatory Protein-2 Is Required For Neutrophil Passage Across The Epithelial Barrier Of The Infected Urinary Tract. *Journal Of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950). 1999;162(5):3037–44.

EK

BİLGİLENDİRİLMİŞ ONAM FORMU

Renal skar ,akut pyelonefrit sonrasında gelişebilen bir komplikasyondur. Bu nedenle akut piyelonefritte renal skar gelişiminin erken tanısının konması için kan ve idrarda renal skar belirteci olabileceğini düşündüğümüz bir parametre olarak (**Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL)**) araştırmayı planlıyoruz.

Bu nedenle rahatsızlığınız nedeniyle yapılması gereken rutin tetkikleriniz için **sizden alınacak kanın ve idarın bir bölümünü** bu araştırmaya yardımcı olmak üzere kullanabilmemiz için müsaadenizi istiyoruz. Araştırmamızın ileride bu hastalığın tanı ve tedavisine katkı sağlayacağını düşünüyoruz. Yapılacak olan araştırmalar tanı ve tedavinizi hiçbir şekilde etkilemeyecektir. **Bu çalışma için rutin kan ve idrar örneği beş kez(tedavi başlangıcı-bitimi, kontrollerinizin 1.3. ve 6.ayı olmak üzere) alınacaktır. Kan alınırken oluşabilecek hemotoma (cilt altı kanamaya bağlı şişlik) karşı alkollü pamukla bası yapılacaktır.** Muhtemel zarar durumunda Dr. Yasin KENESARI'ya' 05065848432 ve 02324122559 no'lu telefonlardan arayıp yardım alabilirsiniz.Alınan örnekler bu çalışma dışında kullanılmayacak, çalışma sonrasında imha edilecektir.Bu çalışma sırasında uygulanacak testlerin ve araştırma ile ilgili gerçekleştirilecek diğer işlemlerin masrafları size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluşa ödetilmeyecektir. Gönüllü bu çalışmaya katılmayı red etme ya da araştırma başladıktan sonra devam etmeme hakkına sahiptir. **Bu çalışmaya katılmanız veya başladıktan sonra herhangi bir safhasında ayrılmanız daha sonraki tıbbi bakımınızı etkilemeyecektir.** Araştırmacı da gönüllünün kendi rızasına bakmadan, olguyu araştırma dışı bırakabilir. Bu çalışmada yer aldığınız süre içerisinde kayıtlarınızın yanı sıra ilişkili sağlık kayıtlarınız kesinlikle gizli kalacaktır. Bununla birlikte kayıtlarınız kurumun yerel etik kurul komitesine ve Sağlık Bakanlığına açık olacaktır. Hassas olabileceğiniz kişisel bilgileriniz yalnızca araştırma amacıyla toplanacak ve işlenecektir. Çalışma verileri herhangi bir yayın ve raporda kullanılırken bu yayında isminiz kullanılmayacak ve veriler izlenerek size ulaşılamayacaktır.

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Hastanın;

Adı:

Soyadı:

Tarih:

Tel:

Adres :

İmza:

Olur Alma İşlemine Başından Sonuna Kadar Tanıklık Eden Kuruluş Görevlisinin;

Adı:

Soyadı:

Tarih:

Görevi :

İmza:

**Araştırma Yapan Araştırmacının
Adı:YASİN**

Soyadı:KENESARI

Tel: 02324122559

Tarih:

İmza: