



**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**TEK TARAFLI PARSİYEL VE KOMPLET ÜRETERAL
OBSTRÜKSİYON OLUŞTURULAN SIÇANLARDA
İPSİLATERAL VE KONTRALATERAL BÖBREKLERDE
ENDOPLAZMİK RETİKULUM STRESİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Mustafa BİLEN

Antalya, 2021



**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**TEK TARAFLI PARSİYEL VE KOMPLET ÜRETERAL
OBSTRÜKSİYON OLUŞTURULAN SIÇANLARDA
İPSİLATERAL VE KONTRALATERAL BÖBREKLERDE
ENDOPLAZMİK RETİKULUM STRESİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Mustafa BİLEN

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Güngör KARAGÜZEL

"Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir"

**"Bu araştırma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: TTU-2021-5615)"**

ANTALYA, 2021

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam ve tüm uzmanlık eğitimim boyunca bana her konuda bilgi, deneyim ve görüşleriyle yol gösteren, bilimsel düşünmenin yanısıra bilimsel davranmayı da öğreten tez danışmanı hocam sayın Prof. Dr. Güngör KARAGÜZEL'e,

Aldığım eğitim süresince beni fikirleriyle ve tecrübeleriyle destekleyen, hocalığının yanında bir baba gibi her zaman yanımda hissettiğim anabilim dalı başkanımız, hocaların hocası sayın Prof. Dr. Mustafa MELİKOĞLU'na,

Bilgi ve tecrübelerini her yönüyle paylaşmaktan çekinmeyen hocam sayın Prof. Dr. Abdurrahman KARAMAN'a,

Cerrahinin bir bulmaca gibi olduğunu ve analitik düşünmeyle çözümün çoğu zaman kolayca bulunabileceğini bize gösteren, cerrah kişiliğinin yanı sıra sosyal yönüyle de örnek aldığım hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Cem BONEVAL'e,

Deneyisel çalışmamın bütün histolojik değerlendirme aşamalarında katkıları olan Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan sayın Prof. Dr. Necdet DEMİR'e ve histolojik/moleküler biyolojik analizleri özenle yapan sayın Dr. (PhD) Esma KIRIMLIOĞLU'na, Araş. Gör. Alexandra Cernomorçe'ye ve Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesi çalışanlarına,

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve becerisinden yararlandığım değerli kıdemlilerim, birlikte sorumluluk üstlenip tüm zamanımızı paylaştığımız değerli asistan arkadaşlarım, ekip ruhuyla ve bir aile gibi çalıştığımızı hissettiren hemşire, personel ve sekreterlerimize,

Hayatım boyunca bana desteklerini esirgemeyen, bugünlere gelmemde büyük emek sahibi olan sevgili anneme, babama ve kardeşlerime,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	v
Şekiller Dizini	vii
Çizelgeler Dizini	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Böbrekler	3
2.1.1. Böbreğin Embriyolojisi	3
2.1.2. Böbreğin Histolojisi	6
2.1.3. Böbreğin Anatomisi	7
2.1.4. Böbreğin Fizyolojisi	10
2.2. Üreterler	15
2.2.1. Üreterin Embriyolojisi	15
2.2.2. Üreterin Histolojisi	15
2.2.3. Üreterin Anatomisi	16
2.2.4. Üreterin Fizyolojisi	17
2.3. Üreteropelvik Bileşke Obstrüksiyonu	18
2.3.1. Hidronefroz	18
2.3.2. Etiyoloji ve Sınıflandırma	20
2.3.3. Üreteropelvik Bileşke Obstrüksiyonu Patofizyolojisi	21
2.3.4. Üreteropelvik Bileşke Obstrüksiyonu Histopatolojisi	23
2.3.5. Üreteropelvik Bileşke Obstrüksiyonu ile Birlikte Olan Ek Anomaliler	23
2.3.6. Üreteropelvik Bileşke Obstrüksiyonu Semptomları	24
2.3.7. Üreteropelvik Bileşke Obstrüksiyonu Değerlendirme Yöntemleri	24
2.3.8. Üreteropelvik Bileşke Obstrüksiyonunda Tedavi ve Prognoz	28
2.4. Endoplazmik Retikulum Stresi	31
2.4.1. Endoplazmik Retikulum Stresine Cevap Yolakları	32
2.4.2. Endoplazmik Retikulum Stresi Sonucunda Apoptozisin Uyarılması	35
3. GEREÇ VE YÖNTEM	37
3.1. Deney Hayvanları	37

3.2. Gruplar	37
3.3. Anestezi ve Cerrahi İşlemler	38
3.4. Makroskopik/Morfolojik Değerlendirme Yöntemi	40
3.5. H&E Boyama ile Histopatolojik Değerlendirme Yöntemi	41
3.6. İmmunohistokimyasal Boyama ile Değerlendirme Yöntemi	42
3.7. Kantitatif Real-Time PCR Değerlendirme Yöntemi	43
3.8. İstatistiksel Analiz	46
4. BULGULAR	47
4.1. Makroskopik/Morfolojik Bulgular	47
4.2. H&E Boyamasına Ait Histopatolojik Bulgular	51
4.3. İmmunohistokimyasal Bulgular	52
4.3.1. GRP78 Ekspresyonu	52
4.3.2. CHOP Ekspresyonu	54
4.3.3. Cleaved Caspase-3 Ekspresyonu	55
4.4. Kantitatif Real-Time PCR Değerlendirmesi	56
4.4.1. GRP78 mRNA Ekspresyonu	56
4.4.2. CHOP mRNA Ekspresyonu	57
5. TARTIŞMA	59
6. SONUÇLAR	67
7. ÖZET	69
8. ABSTRACT	71
9. KAYNAKLAR	73
10. EKLER	86
Ek 1. Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onayı	86

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADH	Antidiüretik Hormon
ATF6	Activating Transcription Factor 6
ATP	Adenosine Triphosphate
BKA	Böbrek Kan Akımı
BiP	İmmunoglobulin Heavy Chain Binding Protein
BT	Bilgisayarlı Tomografi
CHOP	C/EBP Homologous Protein
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EAU	European Association of Urology
ER	Endoplazmik Retikulum
ERS	Endoplazmik Retikulum Stresi
GFR	Glomerular Filtration Rate
GRP78	Glucose Regulated Protein 78
H&E	Hematoksilen-Eozin
HSP	Heat Shock Protein
IRE1	Inositol Requiring Enzyme 1
İVP (İVÜ)	İntravenöz Pyelografi (İntravenöz Ürografi)
JNK	c-Jun N-terminal Kinase
K grubu	Kontrol grubu
KÜO	Komplet Üreteral Obstrüksiyon
MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
PERK	Protein Kinase RNA-Like ER Kinase
PCR	Polymerase Chain Reaction
PÜO	Parsiyel Üreteral Obstrüksiyon
PÜV	Posterior Üretral Valv
RAA	Renin Anjiotensin Aldosteron
RT-PCR	Real-Time Polymerase Chain Reaction
S grubu	Sham grubu
SFU	Society for Fetal Urology
SD	Standart Deviation (Standart Sapma)

ÜPB	Üreteropelvik Bileşke
ÜPBO	Üreteropelvik Bileşke Obstrüksiyonu
UPR	Unfolded Protein Response
USG	Ultrasonografi
ÜVB	Üreterovezikal Bileşke
ÜVBO	Üreterovezikal Bileşke Obstrüksiyonu
VCUG	Voiding Cystourethrography
VÜR	Vezikoüreteral Reflü



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2.1. Gelişimin değişik dönemlerinde embriyoda nefrik tübül oluşumu.	3
2.2. Beş (5) haftalık embriyoda pronefrik, mezonefrik ve metanefrik sistemler.	4
2.3. Beş (5) haftalık bir embriyoda, ürogenital sırttan alınmış transvers kesit.	5
2.4. Beş (5) hafta sonunda sonbarsak ve kloaka arasındaki ilişki.	6
2.5. Böbreğin anatomik yapısı ve damarları.	7
2.6. Nefronun yapısı.	13
2.7. UPR sinyal yolları.	33
2.8. Endoplazmik retikulum stresıyla indüklenen apoptotik mekanizmalar.	36
3.1. Ameliyat öncesi cerrahi alanın hazırlık görüntüleri.	38
3.2. S grubunda üreteral obstrüksiyon işleminin uygulanmadığı görüntü.	39
3.3. PÜO grubunda üreterin psoas kasına gömüldüğü görüntü.	39
3.4. KÜO grubunda üreterin iki noktadan bağlandığı görüntü.	40
3.5. PÜO grubunda sakrifikasyon sonrası eksize edilen böbrekler.	41
3.6. KÜO grubunda sakrifikasyon sonrası eksize edilen böbreklerin görüntüsü.	41
4.1. K gruplarında görülen normal ve sağlıklı böbrekler.	51
4.2. KÜO grubunda görülen patolojik glomerül yapıları.	52
4.3. KÜO ve PÜO deney gruplarında görülen anormal yapılar.	52
4.4. Böbrek korteksinde görülen GRP78 protein ekspresyonu.	53
4.5. Böbrek medullasında görülen GRP78 protein ekspresyonu.	53
4.6. Böbrek korteksinde görülen CHOP protein ekspresyonu.	54
4.7. Böbrek medullasında görülen CHOP protein ekspresyonu.	55
4.8. Böbrek korteksinde görülen cleaved caspase-3 protein ekspresyonu.	56
4.9. Böbrek medullasında görülen cleaved caspase-3 protein ekspresyonu.	56
4.10. Sıçan böbreklerinde GRP78/ β -Actin mRNA ekspresyonu.	57
4.11. Sıçan böbreklerinde CHOP/ β -Actin mRNA ekspresyonu.	58

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
2.1. SFU fetal hidronefroz derecelendirme sistemi.	19
2.2. Pelvis AP çapına göre antenatal hidronefroz sınıflaması.	19
4.1. K grubu ile PÜO grubu karşılaştırılması.	49
4.2. K grubu ile KÜO grubu karşılaştırılması.	50
4.3. KÜO ve PÜO grupları için sol ve sağ böbrek karşılaştırması.	51



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gebelikte yapılan USG'lerde en sık rastlanan üriner anomali %1-5 ile prenatal/antenatal/fetal hidronefrozlardır. Bunların büyük bir çoğunluğunda hidronefroz, üriner sistemin, özellikle de ürteropelvik bileşke (ÜPB) düzeyindeki yavaş matürasyonun sonucu gelişen geçici veya fizyolojik bir durumdur. Çoğu gebeliğin sonuna doğru veya postnatal ilk yıl içinde kendiliğinden kaybolur. Klinik önemi olan prenatal hidronefrozun belli başlı nedenleri üreteropelvik bileşke obstrüksiyonu (ÜPBO), üreterovezikal bileşke obstrüksiyonu (ÜVBO), vezikoüreteral reflü (VÜR), üreteral stenoz, posterior üretral valv (PÜV), üreterosel ve prune belly sendromudur (1-3).

Yenidoğan döneminde üreter ve mesanede dilatasyon olmadan böbreğin ciddi şekilde hidronefrotik olmasının en sık nedeni ÜPBO'dur. ÜPBO, idrarın pelvisten üretere geçişinin anatomik veya fonksiyonel sebeplerle engellenmesidir. Çocuklarda böbrek yetmezliğinin en sık sebepleri arasındadır (1,4).

ÜPBO cerrahi yöntemler ile başarılı olarak tedavi edilebilmektedir. Ancak uygun cerrahi tedaviye rağmen obstrüktif üropati ilerleyici seyir gösterip böbrek yetmezliği ile sonuçlanabilmektedir (5). ÜPBO'na bağlı böbrek zedelenmesinin etyopatogenezi henüz tam aydınlatılamamış olup bu konudaki deneysel çalışmalarda genellikle PÜO veya KÜO içeren hayvan modelleri kullanılmaktadır. Bu modellerde, biyokimyasal olarak serum kreatinin ve üre nitrojen değerleri (6), radyolojik olarak böbrekte gelişen yapısal değişiklikler ve fibrozis (7), histopatolojik olarak tübüler dilatasyon, tübüler nekroz ve interstisyel fibrozis (8), moleküler biyolojik olarak aquaporin ilişkili mRNA ekspresyonu (9), ultrastrüktürel olarak tübül mikrovilluslarında, podosit uzantılarında ve apoptozise uğrayan hücrelerin organellerinde meydana gelen değişiklikler araştırılmıştır (10). Endoplazmik retikulum (ER), lipid ve protein sentezi, protein katlanması, kalsiyum homeostazı gibi çeşitli fonksiyonları gerçekleştiren bir organeldir. Bu organelde çeşitli patolojik süreçler nedeniyle katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinlerin artması ve birikimi sonucu organelin homeostazı bozularak endoplazmik retikulum stresi (ERS) meydana gelmektedir. Bu strese bağlı olarak katlanmamış proteinler, protein kümelerini oluşturmaya eğilimli olan ve protein içerisinde bulunan

hidrofobik aminoasit kalıntılarını ortaya çıkarmaktadır. Oldukça toksik olan bu protein kümelerinin birçok hastalıkla ilişkisinin olduğu bilinmektedir (11-13). ER, strese cevap olarak "katlanmamış protein yanıtı (unfolded protein response, UPR)" olarak tanımlanan ve GRP78 proteini ile ilişkili karmaşık bir sistemi harekete geçirmektedir. ERS ile başa çıkılamaması durumunda ise çevre hücrelere zarar gelmesini önlemek amacıyla hücrede CHOP ilişkili apoptotik süreç devreye girmektedir (13). Apoptozis ERS'de temel olarak kaspas yolları üzerinden gerçekleşir. Kaspaslar, enflamasyonu ve apoptozisi kontrol eden hücre düzenleyici ağlarda kritik bağlantılar sağlayan bir endoproteaz ailesidir. Apoptoziste asıl rol alan kaspas-3, -6, -7, -8, -9 ve -12 dir. Sitoplazmik kaspas-3 ise apoptozis yollarında major rol oynayan, uyarım neticesinde *cleaved caspase-3*'e dönüşerek apoptozisi sağlayan ve cellat olarak tanımlanan kritik bir kaspastır (14).

ERS, birçok hastalıkta meydana gelen doku hasarının etyopatogenezini ortaya koymak için son yıllarda üzerinde durulan bir konudur. Literatür incelendiğinde üriner sistem dahil birçok organ ve dokuda meydana gelen hücresel hasarda ERS'nin rol aldığı bildirilmiştir.

Komplet üreteral obstrüksiyona (KÜO) bağlı böbreklerde gelişen ERS ile ilgili çalışmaların sayısı çok sınırlıdır. Klinik uygulamada daha sık karşılaşılan parsiyel üreteral obstrüksiyonun (PÜO) böbreklerdeki ERS üzerine nasıl bir etkiye bulunduğu ise bilinmemektedir. Bu konudaki literatür bilgileri incelendiğinde, tek taraflı PÜO durumunda böbreklerde ERS gelişip gelişmediği ve ERS'nin hücresel apoptozis ile nasıl bir ilişki gösterdiği sorularına yanıt veren bir çalışma olmadığı görülmüştür. Ayrıca, bu konuyu, aynı deneysel modelde hem KÜO hem de PÜO'un etkilerini kıyaslayacak şekilde ele alan bir araştırma da bulunamamıştır.

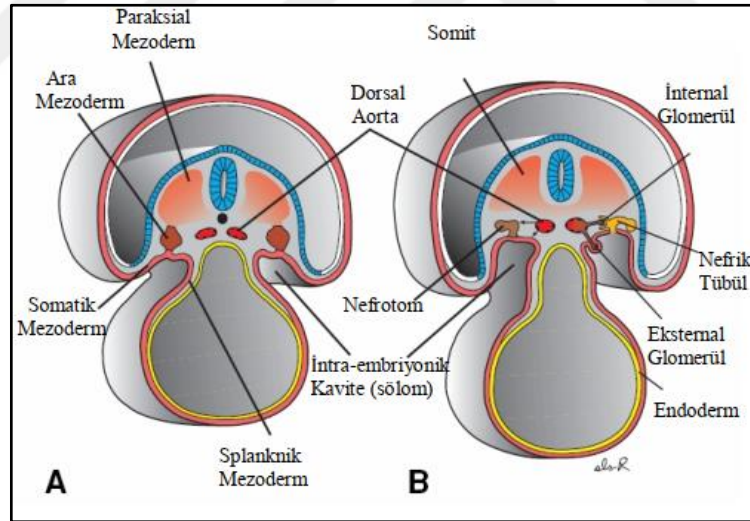
Bunlardan yola çıkılarak, çalışmamızda tek taraflı PÜO ve KÜO oluşturulan sıçanların ipsilateral ve kontralateral böbreklerinde hem ERS'nin var olup olmadığının hem de bunun renal parankimal apoptozis ile ilişkisinin immunohistokimyasal ve moleküler biyolojik yöntemler kullanılarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Böbrekler

2.1.1. Böbreğin Embriyolojisi

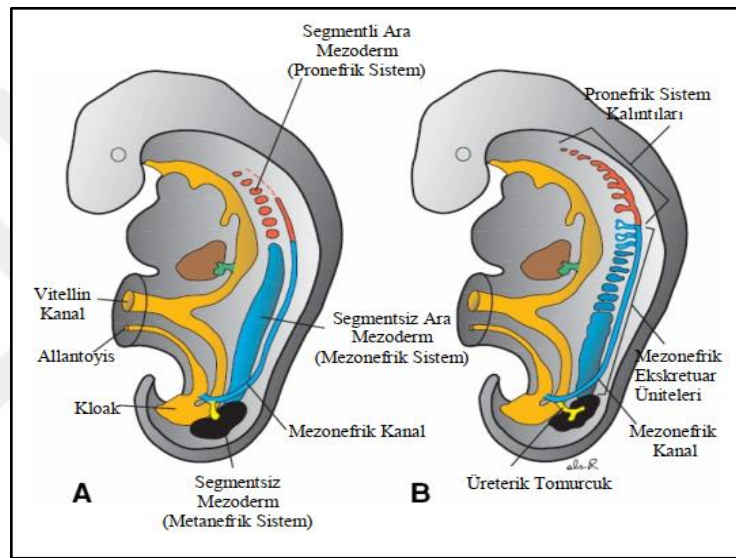
Ürogenital sistem, işlevleri tamamen farklı ancak gelişimleri birbirleriyle çok yakından ilişkili olan üriner sistem ve genital sistem olmak üzere iki bölümde incelenir. Başlangıçta kloaka adı verilen ortak bir boşluğa açılan bu iki sistem de ara mezoderm (intermediyer mezoderm) denilen ve embriyonun dorsal vücut duvarı boyunca uzanan yapıdan gelişir (Şekil 2.1). Üriner sistem ve genital sisteme ayrı ayrı dönüşmek üzere ara mezodermde nefrojenik kordon ve genital kabartı şeklinde farklılaşma gerçekleşir. İnsanlarda üriner sistem, intrauterin dönem boyunca nefrojenik kordon üzerinde kranialden kaudale doğru üç farklı aşamadan geçerek gelişmektedir; pronefroz, mezonefroz ve metanefroz (Şekil 2.1) (15,16).



Şekil 2.1. Gelişimin değişik dönemlerinde embriyoda nefrik tübül oluşumu. (a. 21. gün, b. 25.gün) (Sadler'den 16).

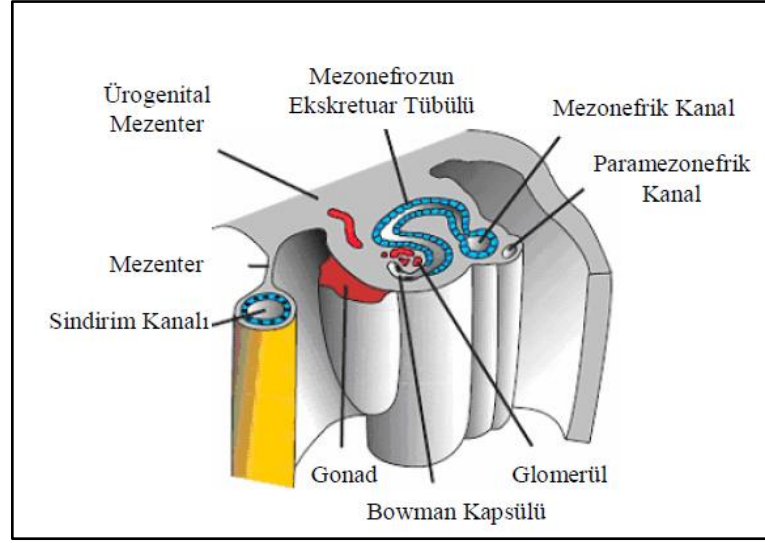
İlk oluşan böbrek sistemi olan pronefroz fonksiyonel bir özelliğe sahip değildir. İkinci oluşan böbrek sistemi mezonefroz, daha iyi gelişmiş haldedir ve geçici bir süre fonksiyon görür. Üçüncü olarak oluşan böbrek sistemi metanefroz, esas kalıcı böbrekleri oluşturan sistemdir (17).

Pronefroz, insan embriyosunda dördüncü hafta başlarında nefrojenik kordonda 7-10 adet nefrotom denilen solid hücre topluluğu biçiminde ortaya çıkar. Daha sonra bu nefrotomlar lümen kazanarak pronefroz tübüllerini meydana getirir. Bu tübüller embriyonun her iki yanında longitudinal uzanan birer kanal oluştururlar. Pronefroz kanalları olarak nitelendirilen bu oluşumlar kolaka'ya açılırlar (15). İlk meydana gelen kranial pronefroz tübülleri, sonuncular oluşmadan gerilemeye başlarlar. Dördüncü haftanın sonuna gelindiğinde, pronefroz sisteminin tüm belirtileri kaybolur (Şekil 2.2) (15).



Şekil 2.2. Beş (5) haftalık embriyoda pronefrik, mezonefrik ve metanefrik sistemler. a) İntermediate mezodermin pronefrik, mezonefrik ve metanefrik sistemlerinin ilişkisini gösteren çizim, b) Pronefrik ve mezonefrik sistemlerin boşaltım tübüllerinin şematik çizimi (Sadler'den, 16).

Mezonefroz, 4. haftanın sonuna doğru rudimenter yapılar olan pronefrozların kaudalinde gelişmeye başlayan boşaltım tübülleridir (15,17). Bu tübüller boy olarak hızlıca uzayıp S şeklinde kıvrımlaşır ve bu sırada medial uzantılarının ucunda ortaya çıkan glomerülüsün Bowman kapsülünü oluştururlar. Bowman kapsülü ve glomerülüs birlikte renal cisimcik olarak nitelendirilir. Mezonefrik tübüller lateralden, mezonefrik veya wolffian kanal olarak bilinen toplayıcı kanala açılırlar (15). İkinci ayın ortasında, mezonefroz orta hattın her iki yanında büyük ve oval şekilli bir organ haline gelir. Glomerüller ve mezonefrik tübüllerden oluşmuş olan mezonefrik böbrekler kalıcı böbrekler oluşuncaya kadar ara böbrekler olarak embriyoda işlev görürler (Şekil 2.3) (15).

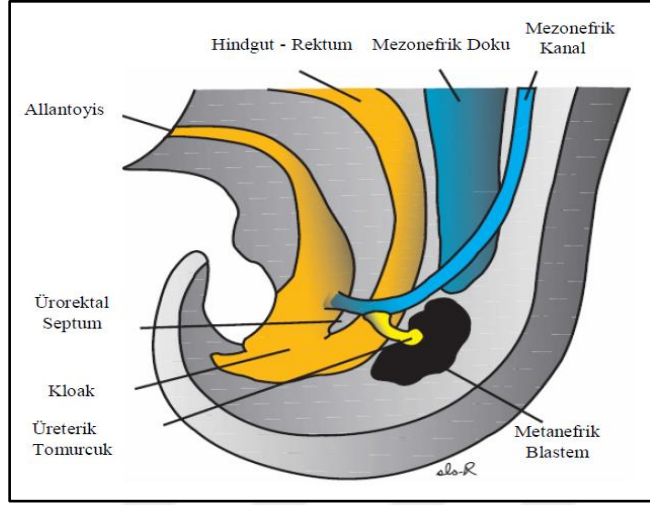


Şekil 2.3. Beş (5) haftalık bir embriyoda, ürogenital sırttan alınmış transvers kesit.

Metanefroz veya kalıcı böbrek, beşinci haftanın başında gelişimine başlayıp yaklaşık dört hafta içinde fonksiyonel özelliğini kazanır. Kalıcı böbrekler iki farklı orijine sahiptirler. Metanefrik divertikül (üreterik tomurcuk) ve intermediyer mezodermin metanefrik kitlesi (metanefrik blastem). Bu her iki primordial yapı da mezoderm kökenlidir. Metanefrik divertikül, mezonefrik kanalın kloakaya giriş yerine yakın bir bölgeden dışarıya doğru yapmış olduğu epitelyal bir çıkıntıdır. Metanefrik blastem ise nefrojenik kordonun kaudal kısmından köken almaktadır (Şekil 2.4) (16,17). Metanefrik divertikül gelişerek üreter, pelvis renalis, kaliksiyel yapılar ve kollektör duktusları meydana getirir. Metanefrik blasteme doğru uzayıp içerisine invaze olan bu divertikül böbreğin gelişiminde çok kritik olan nefrogenez uyarır. Nefrogenezin uyarılmasıyla metanefrik blastemden Bowman kapsülü, proksimal kıvrıntılı tübül, Henle kulpu ve distal kıvrıntılı tübül gelişir. Bu tübüller gelişirken, onların proksimal uçlarında glomerüller ortaya çıkar. Renal cisimcik ve tübül sistemi hep beraber böbreğin fonksiyonel birimi olan nefronu oluşturmaktadır (17). İntaruterin 10. haftada nefronlar matür hale gelir ve idrar oluşturmaya başlarlar. İdrar, amnion boşluğuna geçerek 18. haftadan itibaren amniyon sıvısının neredeyse tamamını meydana getirir.

Gebeliğin sonunda gelişmiş her bir böbrekte ortalama 1 milyon civarında nefron bulunmaktadır. Doğumdan sonra böbreklerde nefron sayısı artmazken özellikle interstisyel doku artışı ve proksimal kıvrıntılı tübüllerin uzamasıyla hacimsel olarak

artar. Böbreklerin fonksiyonel olgunlaşması postnatal dönemde tamamlanmaktadır. (17).



Şekil 2.4. Beş (5) hafta sonunda sonbarsak ve kloaka arasındaki ilişki. (Sadler'den, 16).

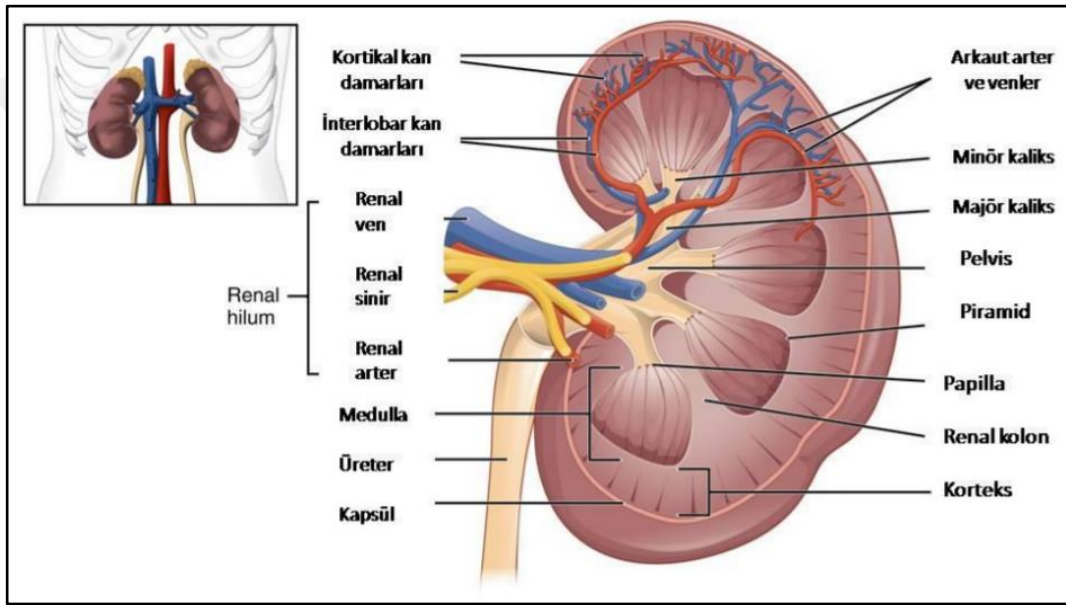
2.1.2. Böbreğin Histolojisi

Böbreği dıştan içe doğru saran tabakalar renal fasya, adipöz kapsül ve fibröz kapsüldür. Böbrek parankimi içte renal medulla ve dışta renal korteks olmak üzere iki kısımdan meydana gelir (Şekil 2.5). Renal korteksin medullayı dıştan saran bölümüne *arcus corticalis*, meduller piramitlerin arasına girerek renal pelvis'e kadar uzanım gösteren bölümüne ise *columna renalis* (Bertini kolonları) adı verilir. Metanefrik blastem kökenli olan korteks, idrar yapımında fonksiyon gösteren renal cisimcikleri, proksimal ve distal tübülleri içerir. Üreter tomurcuğundan köken alan medulla, tepesi renal sinüslere, tabanı renal kortekse bakan, sayıları 8-14 arasında değişiklik gösteren koni şeklinde renal piramitlerden (Malpighi piramitleri) oluşmuştur. Bu piramitlerin minör kalikslerin içine doğru uzanan apeks kısmına renal papilla denir. Genellikle bir, bazen de iki veya üç papillayı içine alan minör kalikslerin birkaç tanesinin birleşmesi ile majör kaliksler oluşur ve bunların sayısı her böbrekte iki veya üç adettir. Majör kaliksler de birleşik renal pelvisi meydana getirir. Huni şeklini alan renal pelvis, ÜPB'den sonra üreter ile devam eder (20,27). Mikroskopik olarak böbreğin en küçük fonksiyonel ve anatomik ünitesi, her bir böbrekte sayısı yaklaşık 1 milyon kadar olan nefronlardır (Şekil 2.5). Bir nefronun yapısı glomerül ve Bowman kapsülü, proksimal tübül, henle kulpu, distal tübül ve

toplayıcı tübüllerden oluşmaktadır. Glomerüller, proksimal ve distal tübülüsler kortekste, toplayıcı tübüller ve henle kulpunun bir kısmı medullada yerleşmiştir (24,25).

2.1.3 Böbreğin Anatomisi

Böbrek, filtrasyon, reabsorpsiyon ve ekskresyon fonksiyonlarıyla günde yaklaşık 1-1,5 L idrar oluşturmaya nedeniyle "idrar üreten organ" anlamında *üropoetica* olarak adlandırılır (18).



Şekil 2.5. Böbreğin anatomik yapısı ve damarları (26).

Böbreğin yerleşimi

Böbrekler karın boşluğunun arka üst tarafında retroperitoneal bölgede torakal 12. ve lomber 3. vertebraların arasında yerleşmiş bir çift organdır. Sağ böbreğin üst ucu T12 vertebra seviyesinde, sol böbreğin üst ucu ise T11 vertebra seviyesindedir. Böbreklerin alt uçları L3 vertebra seviyesindedir. Sağ böbrek üst polde karaciğerle komşu olması nedeniyle sol böbreğe göre 1-2 cm daha aşağıdadır (19).

Böbreğin ağırlığı ve boyutları

Erişkinlerde ortalama 11 cm vertikal uzunluğa, 5,5-6 cm transvers kalınlığa ve 3-3,5 cm anteroposterior kalınlığa sahiptir. Yenidoğanda böbreğin ağırlığı yaklaşık

12,5 gram civarındayken, erişkin erkeklerde ortalama 150 gr, kadınlarda ise 135 gr' ulaşır (20).

Böbreğin şekli

Dış görünüş olarak fasulyeyi andıran böbreğin iç ve dış kenarları (*margo medialis*, *margo lateralis*), ön ve arka yüzleri (*facies anterior*, *facies posterior*), üst ve alt pol olmak üzere iki ucu (*extremitas superior*, *extremitas inferior*) vardır. Doğumda lobule bir yüzeye sahip olan böbreklerin bu görünümü süt çocukluğu döneminde zamanla kaybolur (20).

Böbreğin komşulukları

Sağ böbreğin ön yüzü; suprarenal bez, karaciğerin sağ lobu, kolon ascendens, fleksura coli dekstra, duodenumun ikinci parçası (*pars descendens*) ve jejunum kıvrımları ile komşudur. Sol böbreğin ön yüzü; suprarenal bez, dalak, mide, pankreas gövdesi, splenik damarlar, fleksura coli sinistra, kolon descendens'in başlangıcı ve jejunum kıvrımları ile komşudur (19). Mide, dalak ve ince bağırsak kıvrımlarıyla olan komşuluğu periton aracılığıylaadır. Diğer oluşumlar *fascia renalis* ile yapışık durumdadır (21). Böbreklerin üst-iç yüzleri *glandula suprarenalis* ile komşudur. Böbreklerin arka yüzleri diyafragma, *m. psoas major*, *m. quadratus lumborum*, *m. transversus abdominis*, subkostal damar ve sinirler, *n. iliohypogastricus* ve *n. ilioinguinalis* ile komşudur (19).

Böbreği dıştan saran oluşumlar

Böbreği dıştan içe doğru saran tabakalar; renal fasya, adipöz kapsül ve fibröz kapsüldür (21).

Renal fasya (Gerota fasyası): Adipöz kapsülün hemen dışındadır. Renal fasya ve adipöz kapsül birlikte böbreği ve adrenal bezi sarmıştır (22). Böbrekleri yerinde tutan en önemli oluşumlar renal fasya ve vasküler yapılardır (21).

Adipöz kapsül (perirenal yağ tabakası): Fibröz kapsülün dış tarafında bulunan ve böbreği çepeçevre saran yağ dokusudur (22). Yağ dokusu hilum renale'den devam ederek sinus renalise girer ve burada bulunan oluşumların arasını doldurarak destek doku görevini üstlenir (21).

Fibröz kapsül: Her iki böbreği, hilum da dahil olmak üzere tamamen örten ince sağlam fibröz bir kılıftır (22). Bu tabaka *hilum renalis* 'te iki yaprağa ayrılır. Dıştaki

yaprak renal hilumda bulunan oluşumları 6rtterek onların adventisya tabakalarının yapısına katılır. İ7teki yaprak ise renal hilumdan i7eriye girip *sinus renalis*'in i7 y7z7n7 6rter ve kalikslerin duvarlarına katılır. Fibr6z kaps7l, altındaki subfibr6z tunikaya gevşek olarak tutunduğu i7in b6brek dokusundan kolaylıkla sıyrılabilir (21).

B6breğin damarları

B6brekler, birinci ve ikinci lomber vertebralar arasındaki intervertebral disk hizasında abdominal aortadan ayrılan *arteria renalis* tarafından beslenir. Sağ b6breği perf7ze eden renal arter sola g6re daha uzun ve daha aşağıdadır. Arterler b6brek hilusuna girmeden hemen 6nce iki dala (*ramus anterior* ve *ramus posterior*) ayrılır. Bu dallardan da renal hilumda 5 adet segmental arter ayrılır. Segmental arterler her renal piramide bir tane lobar arter gidecek şekilde dallara ayrılırlar (şekil 2.5). Her bir lobar arter ise renal piramidlerin yanından kortekse doğru uzanan iki veya 77 adet interlobar artere ayrılır. Kortikomeduller sınırda interlobar arterler dallara ayrılarak piramidlerin tabanlarında anastamoz yapmayacak şekilde bir ark oluşturan arkuat arterleri meydana getirirler (şekil 2.5 ve 2.6). Arkuat arterlerden ayrılan interlobuler arterler ise Bowman kaps7l7ne girerek bir kılcal damar yumağı oluşturan afferent glomer7ler arteriollere ayrılır (şekil 3). Bu kapiller yumak efferent glomer7ler arterioller şeklinde Bowman kaps7l7n7 terk eder. Efferent arteriyol proksimal ve distal t7b7lleri besleyecek olan perit7b7ler kapiller ağı (*plexus capillaris peritubularis*) oluşturur (şekil 2.6). Ayrıca arcuat arterler veya efferent glomer7ler arteriollerden ayrılarak perit7b7ler kapiller ağın 6zelleşmiş bir kısmını oluşturan vasa recta dalları ise medullayı besler. Perit7b7ler kapiller ağdan ayrılan kan sırasıyla interlobuler venler, arkuat venler, interlobar venler ve renal vene d6k7l7r. Renal ven de renal hilustan b6breği terk ederek vena kava inferiora katılır (20,23).

Renal arter ve vende %25-40 oranında varyasyonlar g6r7lebilir. En sık g6r7len varyasyon aksesuar renal arterlerdir. Bunlar ana arterin alt ya da 7st7nde ve ona paralel uzanarak hilusa girerler. Ancak bazı aksesuar arterler alt ya da daha sık olarak 7st kutba doğrudan girebilirler. Nadiren ve daha sıklıkla da ektopik b6breklere 76liak plexus, superior mezenterik arter veya iliak arterlerden aksesuar

dallar gelebilir. Alt pole giden aksesuar arterler ÜPB'yi çaprazlayarak eksternal bası yoluyla obstrüksiyon oluşturabilirler (24, 25).

Kısaca böbreğin vasküler ağı; *a. renalis* → *a. segmentalis* → *a. interlobaris* → *a. arcuata* → *a. interlobularis* → *vas afferens* → *vas efferens* → *v. interlobularis* → *v. interlobaris* → *v. renalis* şeklindedir (26).

Böbreğin lenf dolaşımı üç adet plexus oluşturur. Bunların ikisi böbreğin içinde olup biri renal tübül etrafında, diğeri ise fibroz kapsülün hemen altında yer alır. Üçüncü plexus ise adipöz kapsülde bulunur. Böbreğin içindeki plexuslardan gelen lenf damarları *v. renalis*'i takip ederek 4 veya 5 trunkus oluşturur. Bu lenf damarları renal hilustan çıkarken kapsül altındaki damarlar ile birleşir ve *nodi aortici laterales*'e açılır. Adipöz kapsüldeki plexus ise direkt olarak *nodi aortici laterales*'e açılır (21).

Böbreğin sinirleri

Çöliak plexus, aortikorenal plexus, *n. splanchnicus imus*, *n. splanchnicus lumbalis* ve *plexus aorticus abdominalis*'ten gelen sempatik lifler ve vagus sinirinden gelen parasempatik lifler renal plexusu meydana getirir. Sempatik lifler vazokonstriksiyon yaparak böbreğe gelen kan miktarını azaltırken parasempatik lifler vazodilastasyon yaparak artırır (20).

2.1.4. Böbreğin Fizyolojisi

Böbreğin görevleri

Böbrekler, dışarıdan alınan veya vücutta metabolizma sonucu meydana gelen atıkların vücut dışına atılması, vücut sıvılarının hacim ve bileşiminin korunması, hormon üretimi ve hormonların metabolize edilmesi gibi kritik fonksiyonları olan organlardır. Su ve bütün elektrolitlerin vücuda giren ve vücutta açığa çıkan miktarları arasındaki denge, hassas bir şekilde böbrekler tarafından sağlanır. Böbreklerin bu düzenleyici rolleri, hücrelerin metabolik aktivitelerini gerçekleştirebilmeleri için gerekli çevrenin stabil tutulmasını sağlar. Böbrekler, en önemli görevlerini plazmayı filtre ederek ve filtrattan vücudun ihtiyacına göre maddeleri değişik hızda uzaklaştırarak yaparlar. Böbrekler gerekli maddeleri kana geri döndürürken istenmeyen maddeleri idrarla atarak filtrattan ve dolayısı ile kandan uzaklaştırırlar. İstirahat halinde olan bir insanda böbrekler, kardiyak

output'un %20-25 gibi önemli bir kısmını almaktadır. Böbreğin en küçük fonksiyonel birimi olan nefronlar böbreğin temel süzme fonksiyonlarını yerine getirirler. Her bir böbrekte yaklaşık 1 milyon nefron bulunur (28).

Böbreğin başlıca görevleri:

- Su ve elektrolit dengesinin düzenlenmesi
- Asit-baz dengesinin düzenlenmesi
- Yabancı maddelerin ve metabolik artıkların atılması
- Vücut sıvılarının ozmolalite ve elektrolit konsantrasyonunun düzenlenmesi
- Arteriyel kan basıncının düzenlenmesi
- Hormonların salgılanması, metabolize edilmesi ve atılması
- Glukoneogenez

Yabancı kimyasal maddelerin ve metabolizma yıkım ürünlerinin, ilaçların ve hormonal metabolitlerin atılması: Böbreklerin başlıca amacı vücuttan metabolik atıkları uzaklaştırmaktır. Bu ürünler arasında üre (amino asit metabolizmasından), kreatinin (kas kreatininden), ürik asit (nükleik asitlerden), bilirubin (hemoglobin yıkımının son ürünleri) ve değişik hormonal metabolitler sayılabilir. Bu yıkım ürünleri, organizmadan uzaklaştırılmalıdır. Böbrekler aynı zamanda toksinlerin büyük çoğunluğunu ve vücutta açığa çıkan veya pestisit, ilaçlar ve besin katkı maddeleri gibi dışarıdan alınan diğer zararlı maddeleri de idrarla uzaklaştırır (28).

Su ve elektrolit dengesinin düzenlenmesi: Homeostazisin devamı için elektrolitlerin ve suyun idrarla atılması, dışarıdan alınan miktarları ile tam denge içinde olması gerekmektedir. Kardiyovasküler sistemin normal fonksiyon görmesi için vücuttaki sıvı miktarının kontrolü önemlidir. Eğer alınan atılanı aşarsa o maddenin vücuttaki miktarı artar. Eğer alınan atılandan az ise o maddenin vücuttaki miktarı azalır. Böbrekler ayrıca sodyum, potasyum, klor, bikarbonat, hidrojen, kalsiyum ve fosfat gibi bazı elektrolitlerin miktarlarının düzenlenmesinde önemli rol oynar. Bu maddelerin vücut sıvılarında birikmemeleri için idrarla uzaklaştırılmaları gerekir (29).

Arteriye basıncın düzenlenmesi: Böbrekler vücuttaki su ve sodyum miktarını dengede tutarak uzun süreli arter basıncının düzenlenmesinde önemli rol oynarlar. Ayrıca böbrekler hormonlar ve vazoaktif faktörleri veya ürünlerinin (örneğin;

anjyotensin II) yapımına neden olan renin gibi maddeleri salgılayarak, kısa vadeli arter basıncı düzenlenmesine de katkıda bulunurlar.

Asit-baz dengesinin düzenlenmesi: Vücuttaki pek çok metabolik aktivite pH'ya son derece duyarlıdır. Dolayısıyla pH değerinin çok dar bir aralıkta sabit tutulması gerekir. Böbrekler asit atarak ve vücut sıvılarının tampon stoklarını düzenleyerek akciğerlerle birlikte asit-baz düzenlenmesine katkıda bulunurlar ve vücut sıvılarını tamponlar. Böbrekler proteinlerin metabolizması sırasında oluşan sülfürik ve fosforik asit gibi bazı asit tiplerini uzaklaştıran tek organdır (29).

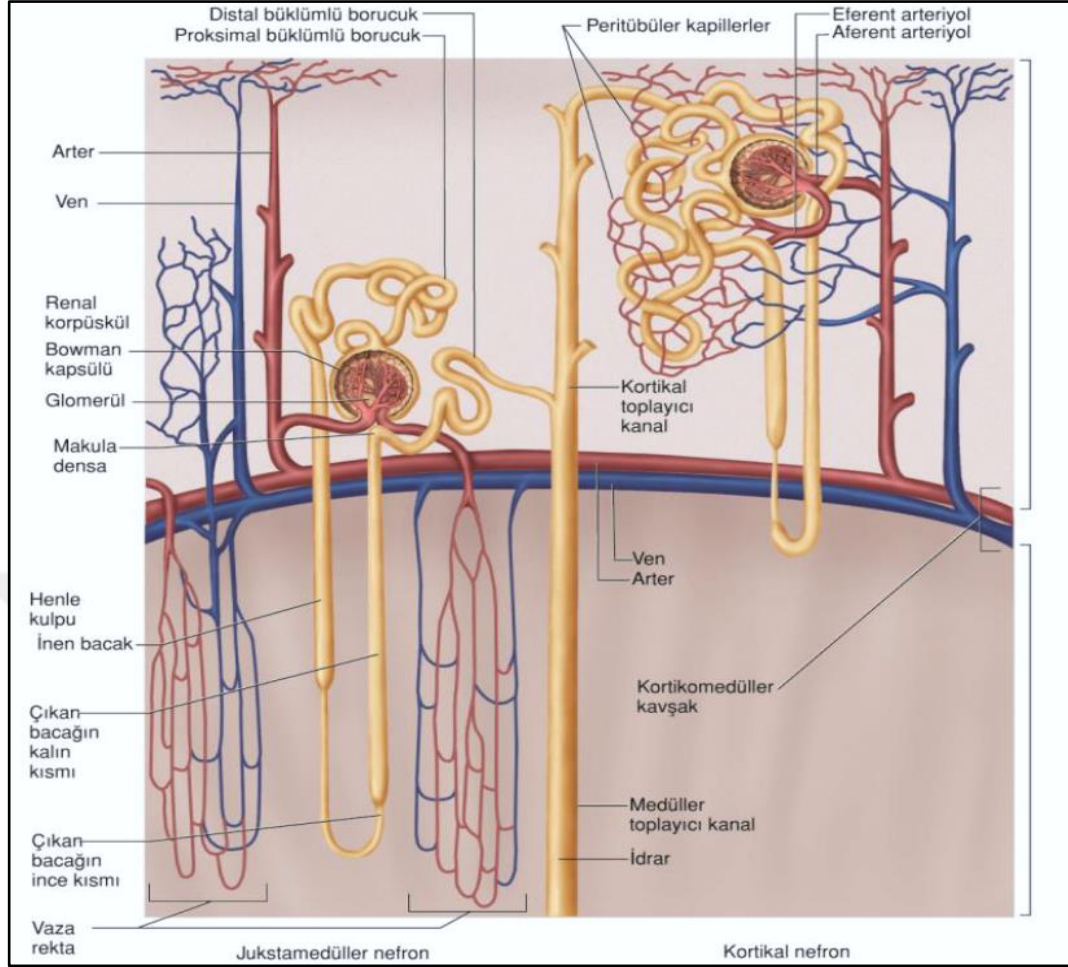
Eritrosit yapımının düzenlenmesi: Böbrekler, ürettikleri eritropoietin sayesinde kemik iliğindeki hemopoetik hücrelerden eritrosit yapımını uyarırlar. Böbreklerden eritropoietin salgılanmasında en önemli uyaran hipoksidir. Sağlıklı kişilerde dolaşımdaki eritropoietinin neredeyse tümünden böbrekler sorumludur. Kronik böbrek yetmezliği olanlarda veya nativ böbrekleri eksiz edilmiş ve hemodiyalize ihtiyaç duyan hastalarda eritropoietin yapımının azalması nedeniyle ağır anemi tablosu gelişir (28).

Endokrin fonksiyon: Böbrekler; renin, kalsitriol, eritropoietin gibi önemli hormonları üreten organlardır. Renin, Na^+ - K^+ dengesini ve kan basıncını düzenlemeye yardımcı olan renin-anjiyotensin-aldosteron (RAA) sistemini aktive eder. Kalsitriol $[1,25(\text{OH})_2\text{D}_3]$, kalsiyumun gastrointestinal sistemden emilmesi ve kemiklere yerleşmesi için gereklidir. Eritropoietin, kemik iliğinde progenitör hücrelerden eritrosit yapımını uyarır (29).

Glukoneogenez: Böbrekler uzun süreli açlık durumunda amino asitlerden ve diğer öncüllerden glukoneogenez denilen işlemle glukoz sentezler. Uzun süreli açlıkta böbreklerin glukoz üretme kapasitesi karaciğerinki ile yarışır (28).

Nefron birimi ve fonksiyonları

İnsanlarda her böbrek idrar üretme yeteneğine sahip 1 milyon civarında nefrondan oluşur. Gelişimini tamamlamış bir böbrek yeni nefron yapamaz. Üstelik 40 yaşından sonra işlev gören nefron sayısında her on senede %10 oranında azalma görülür. Buna rağmen geride kalan nefronların adaptasyon kapasiteleri sayesinde böbrek fonksiyonları korunmaktadır (28,30).



Şekil 2.6. Nefronun yapısı (Vander'den, 30).

Her bir nefronda; Bowman kapsülü, glomerulusa kan getiren afferent arteriol, glomerulustan kanı uzaklaştıran efferent arteriol, glomerulus ve tubuluslar bulunmaktadır. Nefronların en tepesinde bulunan glomerüler kapiller yumak Bowman kapsülüyle sarılmıştır (Şekil 2.6). Glomerüler kapiller yumak içindeki yüksek hidrostatik basınç sayesinde plazma ultrafiltrat olarak Bowman kapsülüne geçer ve proksimal tübüle doğru ilerler. Glomerüllerdeki ultrafiltrat, hücresel elemanlar, proteinler ve proteinlere bağlı olan kalsiyum ile yağ asitleri dışındaki tüm maddeleri plazmayla hemen hemen eşit konsantrasyonda içerir.

Glomerülden Bowman aralığına birim zamanda filtre olan sıvı volümü glomerüler filtrasyon hızı (glomerular filtration rate, GFR) olarak nitelendirilir. GFR, böbrek fonksiyonunun önemli bir göstergesidir.

Tübüler reabsorbsiyon, ultrafiltrata geçmiş olan maddelerin kolaylaştırılmış transport mekanizmalarıyla ve difüzyonla kapiller damarlara geri emilmesidir.

Tübüler sekresyon ise kapiller damarlardan maddenin tübül lümenine taşınması olayıdır. Hem tübüler reabsorbsiyon hem de tübüler sekresyon aktif veya pasif difüzyonla gerçekleşir. Mesela üre trasportu, tübüler geri emilimin pasif olanına, glukoz trasportu ise aktif olanına iyi birer örnektir. Tübül lümenine atılan potasyum ve hidrojen iyonunun büyük bir kısmı filtrasyondan ziyade tübüler sekresyonla oluşturulmaktadır. Dışarıdan alınan pek çok zararlı kimyasallar da tübül lümenine sekresyonla atılır (31).

Glomerüler filtrasyonla oluşan ultrafiltrat böbreğin korteksinde bulunan ve nefronun en uzun kısmını meydana getiren proksimal tübüllere geçer (Şekil 2.6). Proksimal tübüllerde ultrafiltrattaki glukozun ve aminoasitlerin hepsi, suyun ve sodyum klorürün yaklaşık %85'i ve ayrıca kalsiyum ve fosfat reabsorbsiyona uğrar. Sodyum peritübüler boşluğa aktif transportla taşınırken su ve klor da pasif transportla sodyumu izlediği ve proksimal tübül suya çok geçirgen olduğu için nefronun bu kısmındaki filtrat serum ile izoosmolardır (28).

İzotonik ultrafiltrat, renal medullanın derinliklerine kadar uzanan Henle kulpuna geçer. Henle kulpu; inen ince, çıkan ince ve çıkan kalın olmak üzere üç bölümde incelenir (Şekil 2.6). Henle kulpunun inen ince kolu filtre edilmiş olan suyun yaklaşık %20'sini reabsorbe ederken, çıkan ince ve kalın kolların suya geçirgenliği yoktur. Filtre edilen sodyum, potasyum ve klorun %25'i, büyük bir kısmı Henle kulpunun çıkan kalın kolunda olmak üzere reabsorbe edilir (30).

Henle kulpunun bu özellikleri nedeniyle çeşitli koşullarda idrar osmolaritesinin ayarlanmasını sağlayan hiperosmolar renal medulla oluşmaktadır. *Vasa recta*'lardaki ters akım da renal medulladaki hiperosmolaritenin korunmasına büyük katkıda bulunur. Sonuçta Henle kulpunu terk eden filtrat hipotoniktir (28,31).

Henle kulpunun distal tübüle açıldığı yerde maküla densa adı verilen, GFR ve kan akımını düzenleyen özelleşmiş bir yapı yer alır. Henle kulpunun çıkan kalın kısmı ile distal tübüllerin proksimali arasında geri emilim özellikleri açısından oldukça fazla benzerlik vardır. Distal tübüllerin ikinci yarısı ve bunları takip eden kortikal toplayıcı tübüller suyu ve sodyumu aktif transportla geri emerken, lümene potasyum sekrete ederler. Ayrıca bikarbonat ve potasyum iyonlarını geri emerlerken aktif olarak hidrojen iyonlarını sekrete ederler. Bu bölgelerdeki

potasyum sekresyonu ve sodyumun geri Emilimi aldosteronun, suyun geri Emilimi de antidiüretik hormonun (ADH) kontrolü altındadır.

Sodyum ve su geri Emiliminin %10'u medulladaki kollektör kanallara geçen filtrattan gerçekleşir. Medulladaki kollektör kanalların suya geçirgenlikleri de hipofiz bezinden salgılanan ADH'nın kontrolü altındadır. Medullar kollektör kanallar, distal ve kortikal kollektör kanallardan farklı olarak üreye son derece geçirgendir. Bu sayede filtrattan geri emilen üre, medullanın osmolaritesinin yükselmesine katkıda bulunur. Medullar kollektör kanallar da aktif olarak hidrojen iyonlarını sekrete edebildikleri için distal tübüller ve kortikal kollektör kanallar gibi asit-baz dengesinin kontrolünde önemli rol oynarlar. Medullar kollektör kanallar, henle kulpuna paralel seyrederken birbirleriyle birleşerek genişler ve medullanın renal kalikse doğru yaptıkları çıkıntılar olan renal papillalarda sonlanırlar (28).

2.2. Üreterler

2.2.1. Üreterin Embriyolojisi

Üreter tomurcuğu, gelişimin beşinci haftasında mezonefrik kanaldan epitelyal bir divertikül şeklinde gelişmektedir. Üreter tomurcuğunun kloakanın biraz önünde yanlardan büyüyerek metanefrik blasteme invaze olmasıyla birlikte her iki dokuda farklılaşma başlamaktadır. Metanefrik blastem üreterik tomurcuğun bölünmesini ve dallanmasını sağlar. Üreter tomurcuğundan, kollektör kanallar, minör ve majör kaliksler, renal pelvis ve üreter gelişir. Metanefrik blastemden ise glomerüller, proksimal tübüller ve distal tübüller gelişir (32-34).

2.2.2. Üreterin Histolojisi

Üreter dıştan içe doğru tunika adventisya, tunika muskularis ve tunika mukoza olmak üzere üç tabakadan oluşur. Üreterin lümenine bakan mukoza tabakası, birbirinden bazal lamina ile ayrılan fibroelastik lamina propria ve transizyonel epitelden oluşur. Bu tabakada submukoza ve mukozal veya submukozal bezler yoktur. Mukozanın dışında yerleşmiş olan kas tabakası, üreterin üst 2/3'lük kısmında içte longitudinal ve dışta sirküler, alt 1/3'lük kısmında ise içte longitudinal, ortada sirküler ve dışta longitudinal düz kas liflerinden oluşur. Mesane

duvarında seyreden intramural üreter kısmında ise sadece longitudinal kas lifleri bulunmaktadır. Üreterin en dışında yer alan tunika adventisya, kan damarları, lenfatikler ve zengin bir sinir ağı içeren fibroelastik bağ dokusundan meydana gelmiştir (32,34,35)

2.2.3. Üreterin Anatomisi

Renal pelvis renal sinüsten çıktıktan sonra ÜPB’de daralarak üreter olarak devam eder. Üreterler, böbrekleri mesaneye bağlayan ve idrarı renal pelvisten mesaneye taşıyan tübüler yapılardır. Üreter, erişkinlerde yaklaşık 22-30 cm uzunluğunda ve 3-4 mm çapında olup retroperitoneal yerleşimlidir. Renal pelvisten ayrıldıktan sonra psoas kası üzerinden seyreder, iliak damarları çaprazladıktan sonra pelvisin lateral duvarında devam ederek mesaneye girer. Anatomik olarak abdominal (pars abdominalis) ve pelvik parça (pars pelvica) olmak üzere iki bölüme ayrılır. Abdominal bölümünü arkadan genitofemoral sinir, önden de gonadal arter çaprazlar. Pelvik bölümünü ise kadınlarda uterin arter, erkeklerde ise duktus deferens çaprazlar. Üreterin aşağı doğru seyri boyunca ÜPB, üreterlerin iliak damarları çaprazladığı bölge ve üreterovezikal bileşke (ÜVB) olmak üzere 3 farklı bölgede fonksiyonel darlık alanları mevcuttur (35-37).

Damarları: Üreterlere özgü ayrı bir arter bulunmamaktadır. Arteriyel ve venöz dolaşımları komşu oldukları yapılardan gelen damarlar tarafından sağlanmaktadır. Üreterin abdominal bölümünü besleyen dallar genellikle renal arter, testiküler ya da ovaryan arter, abdominal aorta ve common iliac arterden köken alırken, pelvise girdikten sonra internal iliak arter, superior vezikal arter, erkeklerde inferior vezikal arter ve kadınlarda uterin arterden köken alır. Arterler, üreter duvarına katıldıktan sonra adventisya da longitudinal olarak seyrederler. Bu yüzden üreter cerrahisi sırasında dolaşımın bozulmaması için adventisya tabakasının zarar görmesi engellenmelidir (33). Arterlere aynı isimlerle venler eşlik eder.

Lenfatik akım, arterlere paralel seyreder de üreterin seviyesine göre değişmektedir. Pelvik seviyede lenfatik akım iliak lenf nodlarına, abdominal seviyede paraaortik, parakaval ve interaortokaval lenf nodlarına doğru gerçekleşir (33).

Sinirleri: Üreterin parasempatik innervasyonu nervus vagus ve medulla spinalisin S2-4 segmentlerinden kaynaklanır. Sempatik innervasyonu T10-12 ve L1

segmentlerinden renal plexus, aortik plexus, üst ve alt hipogastrik plexus aracılığıyla gelen sempatik liflerden kaynaklanır. Parasempatik ve sempatik lifler üreter duvarında *plexus uretericus*'u oluşturur. Bu sinir plexusunun peristaltik hareketlerden sorumlu olduğu düşünülmektedir (38).

2.2.4. Üreterin Fizyolojisi

Üreterin asıl görevi böbreklerde üretilen idrarı yapısında bulunan kas tabakasının oluşturduğu peristaltik hareketlerle renal pelvisten mesaneye taşımaktır. Kaliksiyel ve renal pelvis kasılmalarının frekansı proksimal üreter kasılmalarından daha fazladır (39). Üreterlerde kasılmanın başlaması için gerekli olan uyarı, pacemaker olarak tanımlanan interstisyel Cajal hücreleri tarafından oluşturulur. Cajal hücreleri diğer hücrelerden transmembran istirahat potansiyellerinin daha düşük olması ile ayrılır. Bu hücreler daha çok pelvikalisiyel bileşke sınırında yerleşmektedir. Pacemaker hücrelerden çıkan elektriksel aktivite, peristaltik dalgalara neden olarak idrarın bolus şeklinde proksimalden distale doğru ilerlemesini sağlar. İdrar bolusu üreterovezikal bileşkeden geçip mesaneye ulaştığında kasılma dalgası tam bileşkede sonlanır. (34).

İstirahat halinde 0-6 cm H₂O civarında olan üreter lümen içi basıncı, kontraksiyon esnasında 30-85 H₂O düzeyine kadar çıkabilmektedir. Dakikadaki ortalama kontraksiyon sayısı 2-8 civarındadır. İdrarın akım hızı arttıkça, üreterin peristaltik kontraksiyonlarında da artış olur (40-42).

Kalikslerden çıkan kontraktıl dalgalar sayesinde idrarın papilladan çıkışı sağlanır ve böylece renal parankim artmış intrapelvik basınçtan korunmuş olur. Normal idrar akışında kontraksiyon dalgaları, pelvis ya da ÜPB'de çoğunlukla bloke olur. Artan idrar akımıyla beraber bu blok ortadan kalkar ve üretere peristaltik dalga aktarılmış olur. Yani idrar akımı az olduğu zaman kalikslerdeki kontraksiyon sayısı üreterden daha yüksekken, idrar akımında artış olduğunda kalikslerle üreterdeki kontraksiyonlar aynı sıklıktadır (40).

Üreterin noradrenalin içeren sempatik ve asetilkolin içeren parasempatik sinirler taşıdığı bilinmektedir. Parasempatik uyarı peristaltizmin sıklığını artırırken, sempatik uyarı peristaltizmi bloke eder. Transplantasyon ya da denervasyon sonrası üreterdeki peristaltizmin devam ediyor olması, otonom innervasyon olmadan da

peristaltik aktivitenin olusabilecegini göstermektedir. Ancak otonom sinir sisteminin en azından düzenleyici bir görevinin olduğu ve hem bolus hacmi etkileyerek hem de kontraksiyon sıklığını değiştirerek idrar taşınması üzerine etkili olduğu gösterilmiştir (41,43)

2.3. Üreteropelvik Bileşke Obstrüksiyonu

2.3.1. Hidronefroz

Hidronefroz, renal pelvisin ve intrarenal kalikslerin olağandışı genişlemesi (hidrostatik distansiyonu) şeklinde tanımlanabilir (1). Böbrek pelvisi ile dış üretral mea arasında herhangi bir noktada görülebilen fonksiyonel, intrensek veya ekstrensek bir engel, ya da VÜR hidronefrozun nedeni olabilir. Günümüzde USG'nin yaygın kullanıma girmesiyle birlikte üst üriner sistemdeki minör dilatasyonlar da dahil edildiğinde, hidronefroz prevalansı %0,2-0,5'e kadar çıkmaktadır (44-46). Obstrüksiyon nedeniyle idrar akımının engellenmesi basınç artışına neden olur. Basınç artışı böbreklerde önce kaliksiyel yapıları etkiler. Artış devam ederse kaliksler konkav görüntüsünü kaybeder, forniksler küntleşir veya yuvarlaklaşır, daha da devam ederse papilla iskemik atrofi nedeniyle yassılaşır, konveksitesini kaybedip konkav bir görünüm alır (47,48). İlerleyen evrelerde kaliksiyel yapılar hidronefrotik poşlar haline gelir. İntrapelvik basıncın yükselmesi sonucunda böbrek parankimi kapsül ile kaliksler arasına sıkışarak atrofiye uğrar. Kalikslerdeki genişleme şiddetiyle parankimal kayıp genellikle doğru orantılıdır. Normal bir erişkinde böbrek parankim kalınlığı 15-20 mm iken, hidronefrotik poş halini almış böbrekte 4-6 mm'ye kadar düşer. Böyle bir böbrekte obstrüksiyon düzeltilse bile parankim kaybı ciddi düzeyde olduğundan böbreğin fonksiyonları düzelmez (47,48).

Prenatal hidronefrozun belli başlı nedenleri ÜPBO, ÜVBO, VÜR, üreteral stenoz, PÜV, üreterosel ve prune-belly sendromudur. Postnatal hidronefrozun en sık nedeni ise ÜPBO'dur (49-51).

Literatürde, hidronefroz derecesini belirlemede USG temelinde en sık kullanılan yöntem SFU (Society of Fetal Urology) hidronefroz derecelendirme sistemidir (Çizelge 2.1). Bir diğer çok kullanılan sistem ise renal pelvis ön-arka (AP) çapı

ölçümleridir (Çizelge 2.2, 52-54). Ayrıca, radyologların kullandığı ve Avrupa Çocuk Radyolojisi Derneği tarafından geliştirilen bir hidronefroz derecelendirmesi de mevcuttur (55). Bu derecelendirme aslında SFU'dan alıntılanmış olup onun hafif bir modifikasyondur. Yakın geçmişte multidisipliner konsensusla UTD (Urinary Tract Dilation) klasifikasyonu adına yeni bir hidronefroz evrelemesi geliştirilmiştir (56). Hem prenatal hem postnatal risk sınıflamasını da içeren bu sistem, pelvis renalis ön arka çap ölçümü, kaliks dilatasyonu, parankim kalınlığı, parankim ekojenitesi, üreter dilatasyonu, mesane özellikleri ve prenatal dönem için amnion sıvısı miktarını bir araya getirmektedir. Ayrıca ülkemizde 2007 yılında tanımlanan Önen sınıflamasının da dünyadaki kullanımı ve popülaritesi giderek artmaya başlamıştır (57).

Çizelge 2.1. SFU sınıflaması (52).

Evre 0	Normal
Evre 1	Sadece renal pelviste izlenen hafif dilatasyon
Evre 2	Renal pelviste orta derecede dilatasyon ve birkaç kalikte genişleme
Evre 3	Tüm kalikslerle beraber renal pelviste dilatasyon ve normal böbrek parankimi
Evre 4	Evre 3'teki ile benzer dilatasyon görünümü ve böbrek parankiminde incelleme

Çizelge 2.2 Pelvis AP çapına göre antenatal hidronefroz sınıflaması (52-54)

	Renal pelvis anterioposterior çapı (mm)		
Hidronefroz derecesi	2. Trimester	3. Trimester	Postnatal
Hafif	4-6	7-9	7-9
Orta	7-10	10-15	10-15
Ağır	>10	>15	>15

ÜPBO, fonksiyonel veya anatomik nedenlerle renal pelvisten üretere idrar geçişinin engellenmesidir. Çocukluk çağındaki hidronefrozun en önde gelen sebebi olan ÜPBO, yaklaşık 1.500-1.750 doğumda bir görülür (58). Erkek çocuklarda 3-4 kat daha sıktır (59). Genellikle sporadik görülmesine karşın ailevi bir eğilim olduğu da görülmektedir (60,61). Olguların 2/3'ü sol taraftadır. Vakaların %90'ı tek taraflıyken, 6 aydan küçük çocuklarda çift taraflı görülme ihtimali %21-36 ve daha büyük yaşlarda %5-10'dur (59,62)

2.3.2. Etyoloji ve Sınıflama

UPO tek bir anomaliye değil, birçok etyolojik faktöre bağlıdır ancak obstrüksiyon çoğunlukla primer darlık (adinamik segment) veya aberan bir damara bağlı dış bası sonucu gelişmektedir. Bu faktörler, UP bileşkede drenaj sorununa neden olarak fetal dönemden itibaren böbrekte parankimal hasara yol açmaya başlar. Erişkin hidronefrozlarının aksine, yenidoğan UPO'larında hidronefrozun herhangi bir tedavi gerekmeden kendiliğinden düzeliş potansiyeli yüksektir. Bu da etyolojide bazı geçici obstrüksiyonların yer aldığını düşündürmektedir. UPO etyolojisi intrinsek ve ekstrinsek nedenler olmak iki ana başlıkta ele alınır (1,65).

İntrinsek nedenler

Darlık: Üreter lümenindeki obstrüksiyon üreter boyunca herhangi bir yerde olsa bile, klinik olarak bu duruma daha çok UPB'de rastlanır. UPO'nun %75'i bu gruptadır. İntrinsek neden olarak üreteropelvik bölgedeki sirküler kas hücrelerinde azalma veya kas hücrelerinin arasında kollajen liflerinin içeriğinde değişiklik olduğu düşünülmektedir. Sonuç olarak UPB'de anatomik bir yapı bozukluğuna fonksiyonel bir sorun da eşlik etmektedir (63). Fonksiyonel olarak peristaltizmi ve gevşemesi bozulmuş adinamik bir bölge ve anatomik olarak dar ve fibrotik bir segment UPB'de kıvrılmaya ve drenaj sorunlarına neden olur (1,65).

Kapakçıklar (valfler) ve polipler: Çok ender görülür. Fetal üreteral mukoza kıvrımlarının kalıntılarıdır. Ostling kıvrımları olarak bilinen bu yapılar genelde tıkaçıcı değildir ve bebeğin büyümesi ile kaybolmaktadır (65).

Ekstrinsek nedenler

Aberan (aksesuar) damar: Aberan damar basısına bağlı UPO ekstrinsek obstrüksiyonların en sık nedenidir. Fetal dönemde böbreklerin pelvisen yükselme ve rotasyon sürecinde aorttan gelen ve böbreği geçici bir süreyle besleyen arterlerin regrese olmamasına bağlanmaktadır. Aberan damarın kronik basısı sonucunda üreterin iskemik, fibrotik ve sonuçta stenotik olabileceği düşünülmektedir. Aberan damar basısına bağlı gelişen UPO tüm olguların %10'unu oluşturur (64).

İnversiyon anomalileri (üreterin pelvise yukarıdan giriş yapması): Üreter normalde renal pelvise en alt noktadan bağlanır. UPO'ların bir kısmında üreterin pelvise daha yukarıdan ve çoğunlukla da oblik bir giriş yaptığı görülür. Bu durum izole bir gelişim anomalisine bağlı olabileceği gibi, pelvisin dilate olmasına neden olan

başka bir patolojinin etkisiyle de gelişebilir. İnsersiyon anomalilerine bağlı UPO vakaların %7'sini oluşturmaktadır (1).

Fibröz bantlar ve yapışıklıklar: Tekrarlayan İYE, perkutan nefrostomi ve radyasyon uygulamaları pelvis ve proksimal üreter çevresinde fibrozise neden olabilir. Fibröz bant veya retroperitoneal yapışıklıklara bağlı UPO daha çok büyük çocuklarda gözükür ve vakaların yaklaşık %3'ünden sorumludur (35).

Böbrek mobilitesi: Kısmen mobil olan böbrekler, diyafram hareketleri ve yerçekimi nedeniyle sınırlı da olsa yer değiştirebilmektedir. Bu durumun intermitan ÜPB obstrüksiyonu oluşturabileceği düşünülmüştür (65).

2.3.3. Üreteropelvik Bileşke Obstrüksiyonu Patofizyolojisi

Fetal ve neonatal böbrekler, anatomik ve fonksiyonel olarak hızlı gelişim ve büyüme özelliği sayesinde erişkin böbreğinden çok farklı olup olağanüstü bir kompliyansa sahiptir. En küçük basınç ve hacim değişiklikleri ve reflü karşısında bile dramatik şekilde genişleyerek çok iyi uyum sağlayabilmektedir. Böylece hidronefrozu renal pelviste meydana gelen değişiklikler aşırı distansiyon ve basınç yükselmesini önleyecek şekilde pelvisin genişlemesini sağlar ve böbrek zedelenmesini en aza indirir. Ancak, pelvis renalisin intrarenal veya ekstrarenal konumlanmasına göre kompliyans çok değişkenlik gösterebilmektedir (1,65).

İntrapelvik basınç, obstrüksiyon oluştuktan sonra artmasına rağmen hem bu kompliyans yeteneği hem de ADH, tromboksan A2 ve anjiyotensin-II etkisiyle idrar miktarı azaltılarak birkaç saat içinde normale dönmektedir. Klinik olarak da intrapelvik basınç normal sınırladadır. UPO'da renal pelvis basıncının normale yakın olması nedeniyle böbrek fonksiyon kaybının doğrudan nefronlara yansıyan basınçtan kaynaklanmadığı ortaya konmuştur (66).

Yapılan deneysel çalışmalarda, düz kas hücrelerinin başlangıçta üreterin mesaneye yakın bölümünde ortaya çıkmaya başladığını ve daha sonra UPB'ye doğru ilerlediğini göstermiştir (67). Bu ilerleme UPB'ye yakın bir bölgede duraklarsa peristaltik özelliği olmayan bir segment ortaya çıkmaktadır. UPB, embriyolojik gelişim evreleri de dahil üreterin diğer kısımlarından daha dardır, ayrıca yapılan çalışmalarda düz kas hücrelerinin de daha az olduğu saptanmıştır. Bu yüzden

semptomatik obstrüksiyonların normalin patolojik bir varyantı olduğu düşünölebilir (68,69).

Kronik PÜO'da hidronefroz yanıtı 1-2 hafta süresince en yüksek seviyeye ulaşmasına rağmen renal hasarın önemli bir kısmı obstrüksiyonun erken zamanlarında ortaya çıkmaktadır (70,71). Ayrıca obstrüksiyon süresi uzadıkça, obstrüksiyonun giderilmesi durumunda renal fonksiyonların geri dönme süresi de artmaktadır. Gelişimine devam etmekte olan böbreklerin matür böbreklere nazaran parsiyel obstrüksiyonlardan daha fazla etkilendikleri gösterilmiştir (72). Ancak klinik tecrübeler göstermektedir ki büyük çocuk ve erişkinlerden farklı olarak infantlarda erken dönemde obstrüksiyonun giderilmesi ile böbrek fonksiyonları neredeyse normale dönmektedir (73).

Böbreğin hidronefroza doğru ilerlemesinde ve hidronefrozun şiddetinde, UPB anatomisi ve fonksiyonu, glomerüler ve tübüler fonksiyon, pelvik kompliyans, idrar miktarı ve akım hızı gibi faktörler rol oynamaktadır. Akut obstrüksiyonda ilk bir saatlik sürede BKA ve pelvis basıncında artış görölmektedir. Yaklaşık beş saat süren diğör aşamada ise BKA gerilemesine rağmen pelvik basınçtaki yükseklik sebat etmektedir. Son aşamada da BKA gerilemeye devam ederken, bu sefer pelvik basınçta da düşme başlamaktadır. Subakut ve kronik süreçte BKA düşük seviyede devam etmekte ve böylece pelvis basıncı normal seviyesine gerilemektedir. Yapılan birçok çalışmaya bakıldığında sonuçta kronik dönemde GFR'deki düşüş BKA'ndaki gerilemeye bağılı gözökmektedir (74).

Parsiyel obstrüksiyon sonucu idrar drenajının bloke edilmesiyle oluşan dilatasyon ilk birkaç günlük periyotda papillalarda düzleşme, proksimal tübüllerde az da olsa atrofiye neden olur. Yedinci günde bakıldığında genişlemiş toplayıcı kanallarda atrofi ve apoptotik değışiklikler görölür. On dördüncü günde distal tübüllerde dilatasyon artarak devam eder, proksimal tüböl epitelinde belirgin atrofi gözlenir. Üçüncü haftada da medulla kalınlığında yarı yarıya azalma ve kortekste inceltme izlenirken, glomerüllerde ve tübüllerde şiddetli fibrotik değışiklikler eşlik eder. UPO yapılan böbrekte kronik dönemde kontralateral böbrekte kompensatuar hipertrofi gelişir (47,75).

UPO patofizyolojisi yeterince anlaşılamamış olmasına rağmen obstrüksiyonun zamanla gerileyebileceğı, ilerleyebileceğı veya aralıklı hal alabileceğı

bilinmektedir. Bu nedenle son zamanlarda UPO'da erken dönemden ziyade, izlem sırasında kötüleşme olması durumunda cerrahi uygulanması benimsenmiştir (1)

2.3.4. Üreteropelvik Bileşke Obstrüksiyonu Histopatolojisi

Yapılan çalışmalarda UPB'de düz kas dokusunun bozulması, kollajen miktarındaki artış ve nöral dokuda azalmanın fonksiyonel obstrüksiyonda rol aldığı gösterilmiştir. Bu histolojik değişikliklerin peristaltik dalgaların pelvisten üretere iletilmesinde aksaklığa neden olarak fonksiyonel UPO oluşmasına katkıda bulunduğu düşünülmektedir (76). UPB'deki histopatolojik değişiklikler Pinter ve arkadaşları tarafından 5 grupta tanımlanmıştır:

Grup 1: Normal üreteropelvik bileşke.

Grup 2: Lümen bir miktar komprese olmuş ve longitudinal ve sirküler kas lifleri görülebiliyor, proksimalde hafif hipertrofi ve kısmi kollajen birikimi mevcut.

Grup 3: Lümen daralmış ve iyice komprese olmuş, longitudinal ve sirküler kas lifleri halen fark edilebiliyor. Submukozal kollajen birikimi ve proksimalde ve renal pelviste belirgin musküler hipertrofi mevcut.

Grup 4: Lümen iyice daralmış. Kollajen birikiminin belirgin olduğu düz kas atrofisi, renal pelvis duvarında düz kas hipertrofisi mevcut.

Grup 5: Lümeni olmayan ve duvarı ileri derecede kalınlaşmış bir üreteropelvik bölge. UPB duvarını belirgin derecede infiltre eden kollajen birikimi arasında komprese olmuş düz kaslar mevcut (77).

2.3.5. Üreteropelvik Bileşke Obstrüksiyonu ile Birlikte Olan Ek Anomaliler

UPO ile birlikte olan ek anomaliler genellikle konjenital renal malformasyonlardır. UPO olan çocuklarda %50 oranında diğer ürolojik anomaliler görülebilir (78). Kontralateral böbrekte UPO en sık görülen anomalidir ve %10-40 civarında rastlanır. Bilateral UPO insidansı %21-36 olarak bildirilmiştir (79). Bunun haricinde sıklıkla görülen diğer anomaliler ise renal displazi ve multistik böbrek hastalığıdır. Unilateral agenezi %5 oranında eşlik eder (80). UPO, duplike toplayıcı sistemin alt segmentinde veya nadiren de olsa üst segmentinde ya da ektopik ve at nalı böbrekte de görülebilir (81,82). UPO'ya %10-14 oranında VUR eşlik edebilirken, VUR tespit edilen çocuklarda yaklaşık %0,5 oranında UPO

saptanabilmektedir. Bu anomaliye VATER kompleksine sahip çocukların %21'inde rastlanabilmektedir (83,84)

2.3.6. Üreteropelvik Bileşke Obstrüksiyonu Semptomları

İnfanıl dönemde genellikle asemptomatik olan UPO, günümüzde prenatal fetal USG'nin yaygınlaşmasıyla birlikte genellikle prenatal dönemde tanı alır +(85). Prenatal tanısı konulamayan UPO, infant, adölesan ya da erişkin dönemde bulgu verebilir. Klasik olarak küçük çocuklarda en sık başvuru şekli ebeveyn tarafından ya da rutin fizik muayenede farkedilen karında ele gelen kitledir (58,86). UPO tanısı prenatal dönemde konmamış bebeklerde beslenme bozukluğu, huzursuzluk, gibi nonspesifik belirtiler görülebilenken, büyük yaş gruplarında yan ağrısı, hematüri ve kusma daha sık rastlanan şikayetlerdir. Olguların bir kısmı da tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonu veya hipertansiyon etyolojisi araştırılırken tespit edilmektedir. Pek çok asemptomatik vaka da başka nedenlerle yapılan görüntülemelerde insidental olarak tespit edilir (88).

2.3.7. Üreteropelvik Bileşke Obstrüksiyonu Değerlendirme Yöntemleri

Perinatal hidronefroz vakalarının büyük çoğunluğu asemptomatiktir ve öncelikle prenatal USG ile tanı konulmaktadır. Prenatal hidronefroz tanısı konulmuş infantlarda hedef, postnatal çalışmalarla hidronefrozun nedeninin ortaya konularak hangi bebeklerin güvenle izlenebileceğine karar verilmesi veya ciddi bir obstrüksiyon varsa cerrahi tedaviyle giderilmesi olmalıdır. USG'de pelvis renalisin dilate olduğu ve üreter çapının normal olduğu durumlarda UPO ilk akla gelmesi gereken patolojidir. Perinatal dönemde obstrüksiyona benzer şekilde pelvikaliksiyel dilatasyona neden olan VUR'den ayırt etmek için VCUG yapılması gerekebilmektedir. Whitaker Testi olarak adlandırılan basınç-akım çalışması ve IVP bir dönem bu hastalıkları değerlendirmek için sık tercih edilirken, günümüzde diğer değerlendirme yöntemlerinin devreye girmesiyle birlikte oldukça nadir kullanılmaktadır. Görüntüleme yöntemlerindeki teknolojik gelişmelerle birlikte hidronefrotik böbreğin değerlendirilmesi ve takibinde USG, diüretikli renal sintigrafiler ve MR ürografi yöntemleri başarıyla kullanılmaya başlanmıştır. Bu görüntüleme yöntemleriyle hem anatomik hem de fonksiyonel açıdan klinik takibi

yönlendirecek detaylı bilgiler elde edilebilir. Görüntüleme yöntemleri seçilirken hastaya en az zarar veren, kullanımı kolay, düşük maliyetli, aynı zamanda hasta hakkında yeterli bilgi sağlayabilen yöntemler tercih edilmelidir.

Üriner ultrasonografi: USG, noninvaziv bir yöntem olması, hasta başında rahatlıkla yapılabilmesi, ucuz ve hızlı olması ve hastayı radyasyona maruz bırakmaması nedeni ile hidronefrozu değerlendirmede ilk tercih edilecek yöntemdir. Üriner USG, böbrek boyutlarını, parankim kalınlığını ve görünümünü (ekojenite, kortikomeduller ayırım, kist), hidronefrozun varlığını ve derecesini (UP darlığın şiddetini), tıkanıklığın yerini, üreter dilatasyonunu, mesanenin durumunu ve duvar kalınlığını, kontralateral böbreğin anatomisini ve hipertrofisini ve ek anormali varlığını göstermede çok yararlıdır. Bu nedenlerle, klinik pratikte hidronefroz tanısı ve takibinde en sık başvurulanan altın standart tanı yöntemidir. UPO tanısında ve takibinde mesane ve üreterde anormal bulgular görülmezken pelvikaliksiyel sistemde dilatasyon olması esastır. USG, mümkünse hastayı takip eden hekim veya tecrübeli aynı radyolog tarafından yapılmalı, renal pelvis ön-arka çapı, kalikslerin dilatasyon derecesi ve parankim kalınlığı dikkatle değerlendirilmelidir (1,65).

Prenatal 16-18. haftalarda USG ile böbrekler rutin olarak değerlendirilebilmekle birlikte idrar yollarının değerlendirilebilmesi için en hassas zaman 28. Hafta civarındır. Prenatal dönemde yapılan USG’de renal pelvis AP çapının 10 mm’nin üzerinde olması anlamlı kabul edilmektedir. Postnatal dönemde oligürik geçen ilk 2 günlük geçici dehidratasyon döneminden sonra yapılacak olan USG daha sağlıklı olacaktır. Ancak, bilateral hidronefroz, mesane duvarında kalınlaşma (poterior üretral valvde olduğu gibi), tek taraflı renal agenezi varlığı, oligohidroamnioz gibi durumlarda doğumdan hemen sonra USG ile tanısal çalışmalara başlanması önerilmektedir (85).

Hidronefrozun her ölçümde biraz daha artmış olması ve kontralateral böbreğin normalden daha hızlı büyümesi (kompansatuar hipertrofi durumu) obstrüksiyon lehine bulgular olarak kabul edilmektedir. Ancak USG tek başına obstrüksiyon varlığını ayırt edemez (1,89,90).

Anlamlı bir obstrüksiyon olmadan da pelvikaliksiyel sistemde dilatasyon görülebilir. Ekstrarenal pelvis, peripelvik kist, renal arter anevrizması, geçirilmiş

obstrüksiyonlar nedeniyle gelişen kalıcı dilatasyon, VUR, doğumsal megakaliks, papiller nekroz, pyelonefrit, distandü mesane, diabetes insipidus gibi aşırı diürez durumlarında yalancı pozitif sonuçlar elde edilebilir (91).

Hidronefroz derecesini belirlemek ve izlemde karşılaştırma yapabilmek için klinik pratikte yaygın olarak kullanılan sınıflama Society for Fetal Urology (SFU) tarafından geliştirilmiş olanıdır (92).

Yapılan kapsamlı bir çalışmada hidronefroz derecesindeki artış ile cerrahi girişim gereği arasındaki ilişkiyi irdelemek için pelvis renalis AP çap ölçümü temel alınmıştır. Bu çalışmadan elde edilen bulgulara göre pelvis AP çapının 20 mm'den daha düşük olduğu olgularda cerrahi gerekliliği %3'ü geçmezken; 20-29 mm arasında %20, 30-39 mm arasında %55, 40-49 mm arasında %80'i bulmakta, 50 mm üzerindeki renal pelvis AP çapına sahip böbrek varlığında ise olguların tümünde cerrahi seçeneğinin gerekli olduğu belirtilmiştir (93).

SFU klavuzu sınıflamasına göre 3. ve 4. derece hidronefrozlar veya izlemde pelvis renalis AP çapında progresif artışın cerrahi girişim için endikasyon oluşturduğu belirtilmektedir (94).

Dinamik böbrek sintigrafisi: UPO kliniğine sahip bir böbreğin takip ve tedavisinde temel hedef, böbrek fonksiyonunun korunması olduğundan ciddi olguların takibinde ve zamanında alınacak cerrahi tedavi kararında renal sintigrafi çok yararlıdır. Böbrek maturasyonunun henüz tam olmaması düşük radyonüklid alımına neden olacağından sintigrafinin postnatal 6. haftadan sonra yapılması önerilmektedir (1). Diüretikli böbrek sintigrafisi, obstrüktif üropati tanısında altın standart olarak kabul gören, hidronefrotik toplayıcı sistemin değerlendirilmesinde kliniklerde yaygın kullanılan ve IVP'ye göre radyasyon oranı ve nefrotoksitesisi son derece düşük olan bir yöntemdir (95). Dinamik böbrek sintigrafisi için en sık Tc99m-DTPA (dietilentriaminpentaasetik asit) ve Tc99m-MAG3 (mercaptoacetyltriglycine) kullanılmaktadır. Tc99m-MAG3 daha düşük dozda uygulanabildiği, radyasyon maruziyeti nispeten daha az olduğu ve görüntü kalitesi daha iyi olduğu için daha sık tercih edilmektedir (1).

Diüretik enjeksiyonu sonrası radyofarmasötik ajanın yarısının boşalması için geçen sürenin (T1/2) 20 dakikanın üzerinde olması sıklıkla obstrüksiyon lehine yorumlanırken, 10 dakikanın altında olması durumunda obstrüksiyon ihtimalinin

çok düşük olduğu düşünölebilir ve normal olarak değerdendirilir. Split böbrek fonksiyonlarının %40'ında altında olması veya takiplerde önceki çalışmaya oranla fonksiyonda %10'dan fazla kayıp olması da cerrahi onarıma ihtiyaç olduğunun göstergesidir (96,97).

Voiding cystourethrography (VCUG): Bu tetkik VUR ve alt üriner sistem anormalliklerinde kullanılmaktadır. Toplayıcı sistemdeki genişleme obstrüksiyona bağı olabileceğı gibi VUR'den de kaynaklanabilir. UPO olan vakaların yaklaşık %10-14'ünde eş zamanlı VUR de görölebilmektedir. Yüksek dereceli VUR olanlarda üreterin kıvrılıp bükölmesi sonucu UPB'de obstrüksiyon da oluşabilir. UPO şüphesi olan olgularda bilateral yüksek dereceli hidronefroz, hidronefrozlu duplike sistem, üreterosel, üreter dilatasyonu ve anormal mesane gibi durumlarda VCUG yapılması gerekmektedir (1,65).

Diğer Radyolojik Tetkikler

İVP, BT ve MR iyi görüntü sağlar, ancak patolojiyi daha abartılı gösterebilir. BT ve İVP ciddi radyasyon maruziyetine neden olur. Split böbrek fonksiyonları ve obstrüksiyonun derecesi hakkında yeterli bilgi vermezler. Bu tetkikleri yapmak kolay değildir, çoğunlukla bebeklerde anestezi gerektirir. Oysaki USG her türlü detaylı üriner anatomik bilgiyi non-invazif olarak sağlamaktadır.

İntravenöz pyelografi (İVP): İVP, UPO değerdendirmesinde kullanılan ve radyasyon oranı yüksek olan klasik bir yöntemdir. Böbreklerin boyutu, şekli ve lokalizasyonları, böbreklerin kalitatif fonksiyonları, üreter ve mesanenin yapısı hakkında bilgiler sağlar. Yenidoğan ve bebeklerde, henüz immatür olan böbreklerin konsantrasyon kapasitesindeki yetersizlik ve görüntü kalitesini bozan intestinal gazlar nedeniyle özellikle ilk yaş içinde İVP ideal bir tanısal inceleme yöntemi değildir. Ayrıca, split renal fonksiyon ve hidronefrozun derecesi hakkında yeterli bilgi vermemektedir. Diğer önemli dezavantajları, yüksek radyasyon maruziyeti, böbreklerin önündeki gaz ve dışkının boşaltılması için lavman uygulamalarına ihtiyaç duyulması, serum kreatinin düzeyinin normal olmasının istenmesi, verilen radyoopak maddenin olası nefrotoksik etkisi, yüksek ozmolalite nedeniyle ozmotik diürez oluşturması veya allerjik reaksiyonlara neden olabilmesidir. Tüm bu nedenlerden dolayı, UPO'nun tanı ve takibinde İVP'nin günümüzde kullanımı geri planda kalmıştır (1,88).

Retrograd pyelografi: Genel anestezi altında sistoskopik olarak üretere kateter yerleştirildikten sonra buradan radyoopak madde verilerek floroskopi eşliğinde yapılan invazif bir işlemdir. Yapılan tüm tanısal testlere rağmen hâlen şüpheli olan olgularda ve özellikle UVO şüphesi de bulunan olguların ayırıcı tanısında, ameliyatın başlangıcında pyeloplasti kesisinden önce retrograd pyelografi yapılması tanıyı kesinleştirir. Bunların dışında UPO tanısı konulmuş olgularda rutin çekilmesine gerek yoktur (88).

Bilgisayarlı tomografi: Böbreklerin yüksek kalitede detaylı anatomik incelenmesini sağlar. Kontrast madde enjekte edilerek çekilen BT anatomik görüntülemenin yanında aynı zamanda UPB'deki idrar akımının durumu hakkında da ek bilgi verir. Küçük çocuklarda sedasyon gerekliliği ve çocukların maruz kalacakları radyasyon dozunun standart İVP'deki ile benzer düzeyde olması nedeniyle pek tercih edilmemektedir (99).

Manyetik rezonans görüntüleme (MRG): Olguyu radyasyona maruz bırakmadan ve nefrotoksik kontrast madde kullanmadan kaliteli anatomik görüntüleme elde edilebilen bir yöntemdir. Vücut hareketleri görüntü kalitesini bozduğu için çocuklarda sedasyon gerektirir. Böbrek yetmezliği veya kontrast madde allerjisi olanlarda İVP yerine MR ürografi yapılarak hidronefrozun şiddeti belirlenebilir. Pahalı oluşu, çekiminin uzun zaman alması ve işlem esnasında gürültü seviyesinin yüksek olması çocuklarda rutin kullanımını sınırlamaktadır (100).

Whitaker basınç-akım çalışması: Genel anestezi altında perkütan yolla hem renal pelvise ve hem de mesaneye kateter yerleştirilir. Pelvise sabit hızda (10 ml/dk) sıvı infüzyonu yapılarak pelvis ve mesanedeki basınçlar ölçülüp kaydedilir. Sadece tarihsel önemi nedeniyle kaynaklarda bahsedilen bu yöntem, anestezi gerektiren ve fizyolojik olmayan invazif bir yöntem olduğundan günümüzde kullanılmamaktadır (65,101).

2.3.8. Üreteropelvik Bileşke Obstrüksiyonunda Tedavi ve Prognoz

Antenatal hidronefroz tanısı konulan bebek doğduktan sonra postnatal tanısal değerlendirmelerle gerçek bir anatomik obstrüksiyonun olup olmadığı ortaya konulmalı ve konservatif izlem veya cerrahi tedavi seçeneği belirlenmelidir. İnfantlardaki UPO'ların büyük çoğunluğu hafif düzeyde, bir kısmı orta düzeyde ve

az bir kısmı da ciddi düzeydedir. Hafif ve orta düzey hidronefrozların büyük çoğunluğu (bilateral olanlar da dâhil) benign seyirlidir ve postnatal dönemde konservatif yaklaşımla, renal hasar gelişmeden kendiliğinden düzelebilmektedir. Asemptomatik yenidoğan UPO'da İYE önlenirse zamanla UPB'deki obstrüksiyonun kendiliğinden düzelebileceği görülmüştür. Kendiliğinden düzelmenin nedeni, yenidoğan döneminden itibaren UPB bölgesinde gün geçtikçe anatomik ve fonksiyonel maturasyonun tamamlanması ve/veya yenidoğanın büyümesiyle birlikte üreterde obstrüksiyona neden kıvrım ve katlantıların ortadan kalkması olabilir. Asemptomatik bebeklerde hidronefrozun şiddetine göre değişen aralıklarla USG yapılması, ciddi olgularda renal sintigrafi ile periyodik takip ve profilaktik antibiyotik verilmesi konservatif tedavinin temelidir (102,103,104).

Konservatif yaklaşımın devamında başlıca 3 kriter önem kazanmaktadır: olgunun asemptomatik olması, seri USG'lerde hidronefrozun stabil kalması veya azalması, sintigrafilerde renal fonksiyonun bozulmamasıdır (65,88).

UPO takibinde cerrahi zamanı açısından merkezler arasında farklılıklar bulunmaktadır. Bazı merkezler böbrek fonksiyonlarında bozulmayı beklemeden erken dönemde cerrahi planlarken, diğer merkezler USG ve dinamik böbrek sintigrafisi bulgularında kötüleşme geliştiğinde cerrahiyi tercih etmektedir. Cerrahi planına bakılmadan, hidronefroz düzelene kadar olası İYE'nun engellenmesi için tüm hastalara profilaktik antibiyotik verilmesi tartışmalıdır ve merkezlere göre değişmektedir (88).

SFU cerrahi girişim endikasyonlarını, renal fonksiyonların bozulması (split böbrek fonksiyonunun <%40 olması), dinamik sintigrafi takiplerinde renal fonksiyonda %10'dan fazla kayıp yaşanması, USG değerlendirmede pelvis AP çapında progresif artış ve grade 3-4 şiddetinde hidronefroz olması şeklinde tanımlamaktadır. Diğer endikasyonlar; ağrı, tekrarlayan üriner sistem enfeksiyonu, üriner taş, hematüri gibi semptomların bulunması ve izlem zorluğudur. Rölatif endikasyonlar ise bilateral UPO bulunması, ciddi hidronefroz bulunması ve seri takiplerde progresyon görülmesidir (108).

UPO'nun cerrahi tedavisinde çeşitli pyeloplasti teknikleri kullanılmaktadır. Pyeloplastinin başarı oranı son derece yüksek olup bazı merkezlerde %99-100'e kadar çıkabilmektedir. Yaşamın ilk yılı içinde, özellikle 3-6 aylıkken yapılan

başarılı cerrahi girişimlerden sonra renal fonksiyonlarda gelişme belirgin olmaktadır (106).

Cerrahi tedavinin amacı, renal pelvisten üretere yeterli idrar akışını sağlamak, renal parankim hasarını önlemek veya durdurmak ve semptomları ortadan kaldırmaktır. UPO tedavisinde açık cerrahi, endoskopik, laparoskopik veya robot yardımlı laparoskopik yöntemler gibi cerrahi seçenekler bulunmaktadır. Anderson-Hynes dismembered pyeloplasti, günümüzde birçok merkezde en çok kullanılan ve halen altın standart yöntem olarak kabul edilen tekniktir. Bu cerrahi teknik klinik olanaklara göre günümüzde açık, laparoskopik veya robotik yardımlı laparoskopik olarak icra edilebilmektedir. Bunun dışında Foley Y-V plasti, Heineke-Mikulicz plasti, Culp-DeWeerd spiral flebi, Scardino-Prince flebi gibi daha az başvurulan yöntemler tanımlanmış diğer açık cerrahi tekniklerdir. Aberan damar varlığının ekarte edilebildiği olgularda endopyelotomi tekniği, uygulanabilir, etkin ve minimal invazif bir cerrahi yöntemdir. Fakat bu yöntem teknik zorluklar nedeniyle daha çok büyük yaş gurubundaki hastalara uygulanabilmektedir. Diğer bir endoürolojik yöntem olan balon dilatasyon tekniği, bahsedilen yöntemlere göre başarı şansının daha az olması nedeniyle günümüzde kullanımı azalmıştır. Laparoskopik pyeloplasti ve robotik yardımlı laparoskopik pyeloplasti de deneyimli cerrahlar tarafından gerçekleştirildiğinde minimal invazif ve düşük morbidite oranlarına sahip ancak yüksek maliyetli ve ileri derecede tecrübe gerektiren cerrahi tekniklerdir (28,30,65).

Literatüre göre postoperatif takip belirli aralıklarla USG ve lüzumu halinde renal sintigrafi ile yapılmaktadır. USG ile hidronefroza gerileme ve renogramda drenajın düzelmesi cerrahi tedavinin başarılı olduğunu gösterir. Postoperatif erken dönemde bir anormallik yoksa ameliyattan 1 ay sonra yalnızca USG ile ilk kontrol yapılmaktadır. Ancak, bu dönemde radyolojik olarak hidronefroza belirgin bir düzelme beklenmemelidir. Preoperatif döneme göre hidronefroza hafif azalma olması yeterli bulunmaktadır. Ancak, ilk USG’de hidronefrozun anlamlı derecede azalması da cerrahi olarak obstrüksiyonun giderildiği anlamına gelmektedir. Postoperatif 3.ayda yapılan USG’de hidronefroza anlamlı azalma beklenir. Ancak, bu dönemde komplikasyon gelişmişse (İYE, hidronefrozun aynı düzeyde devam

etmesi) UPB'den normal drenajın olduğunu ve renal fonksiyonun bozulmadığını görmek için dinamik görüntüleme yararlı olabilir (28).

Başlangıçta etkilenen böbrekte diüretikli böbrek sintigrafisinde split renal fonksiyon %10'un altında ise ve klinik takipte hipertansiyon, proteinüri veya İYE gibi tablolar da eşlik ediyorsa tedavide nefrektomi de düşünülebilir. (87,106).

2.4. Endoplazmik Retikulum Stresi (ERS)

ER, hücre içi ve dışı proteinlerin sentezlenmesinde, katlanmasında, transportunda ve modifikasyonunda, lipid sentezinde, kalsiyum depolama ve salınımında, bileşiklerin detoksifikasyon işlemlerinde rol alan ağ yapısında membranlı bir organeldir. Proteinlerin sentezi ve fonksiyonel hale gelmesi için kalite kontrol merkezi olarak da görev yapar (107,108).

Hücrelerin işlevine göre iki tip ER ayırt edilir: Granüllü ER ve granülsüz ER. Granüllü ER protein sentezi için özelleşmiş olup ağı yapısı üzerinde çok sayıda ribozom mevcuttur. Hücrelerdeki protein sentezinin çok önemli bir kısmı burada meydana gelmektedir. Granülsüz ER, ribozomlardan yoksun olup ilaç metabolizması (hepatositlerde olduğu gibi), steroid yapılı hormon sentezi veya kalsiyum depolama ve pompalanmasında rol alan enzimlere sahiptir (108,109).

Hücre dışına gönderilecek proteinlerin hepsi ER'nin sitozolik yüzeyinde yerleşmiş olan ribozomlar tarafından ER lümenine taşınmaktadır. ER lümenine aktarılan yeni sentezlenmiş proteinler hidrksilasyon, N-bağımlı glikolizasyon, disülfid bağ oluşumu, lipidizasyon gibi posttranslasyonel modifikasyonlar gibi katlanma işlemlerinden geçerler. Böylece hücrede üretilen proteinlerin işlevlerini doğru bir şekilde yerine getirebilmesi için üç boyutlu konfigürasyonlarına dönüştürülmüş olur (109).

Proteinlerin katlanması oldukça hassas olan bir işlemdir ve hata olasılığı son derece yüksektir. Sitozolik kalsiyum dengesini bozan durumlar, hipoksi veya iskemi, açlık, ilaçlar, oksidatif stres ortamı, bakteriyel veya viral enfeksiyonlar gibi stresörler ER'de katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinlerin birikmesine neden olabilmektedir. ER'nin protein katlama kapasitesi aşıldığında yanlış katlanmış ya da katlanmamış protein birikimi ERS'ne neden olur (110).

Parkinson, Alzheimer, Huntington gibi nörodejeneratif hastalıklar, tip 2 diyabet ve obezite gibi çok sayıda patofizyolojik durum ERS ile ilişkilendirilmektedir (111).

2.4.1. Endoplazmik Retikulum Stresine Cevap Yolakları

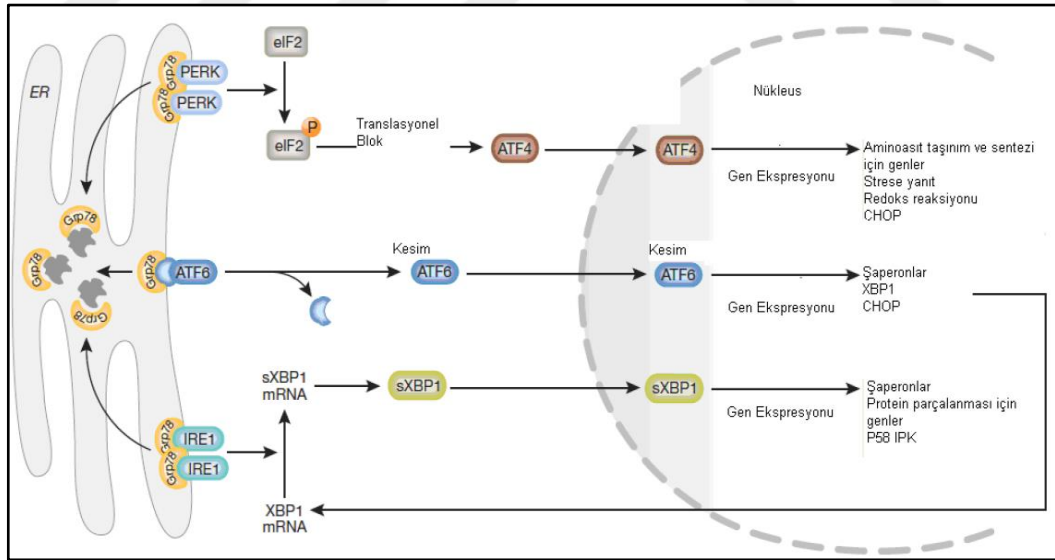
ERS’de şaperon proteinlerin transkripsiyonel düzeyde uyarılması:

BiP/GPR78’in ER şaperonu olduğu bilinmektedir ve HSP70 ailesinin bir üyesidir. GRP78, katlanmamış proteinlerin hidrofobik kısımlarındaki bağları, kendi substrat bağlanma bölgesi yolunu kullanarak konformasyonel değişiklikleri gerçekleştirir. Oksijen regüle edici protein (ORP150/GPR170) bir diğer ER şaperonudur ve HSP110 ailesinin bir üyesidir. Proteinlerin katlanmasını GRP78’e benzer şekilde kolaylaştırır. ER dnaJ (ERdj), ERdj3/human ER asociated dnaJ (HEDJ), ERdj4, ERdj5, SEC63 ve p58IPK gibi HSP40 ailesine mensup başka ER şaperonları da bulunmaktadır. Bunlar GRP78’in ATPaz aktivitesinin kontrol edilmesinden sorumlu şaperonlardır. GRP94, HSP90 ailesine ait bir ER şaperonudur ve ATP hidrolizi üzerinde protein katlanmasına destek sağlamaktadır. Kalneksin ve kalretikülün glikoprotein katlanmalarında rol alan spesifik ER şaperon proteinleridir (112,113).

ER’da protein katlanmaları, GRP78/BiP ve GRP94 gibi şaperon proteinleri ve peptidil-prolil izomeras, protein disülfid izomeras gibi enzimler tarafından kolaylaştırılır. ERS oluştuğunda bu proteinler transkripsiyonel düzeyde uyarılarak kontrol sağlanmış olur. Hücre strese maruz kaldığında, ER’den nukleusa doğru, UPR olarak tanımlanan hücre içi sinyal yolunu aktive eder (Şekil 2.7). UPR’nin hedefi olan genler promoter bölgelerinde ortak bir bölgeyi paylaşırlar ve bu bölge ERS cevap elementi (ERSE) veya UPR elementi (UPRE) olarak bilinir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, ATF6 ve XBP-1’in memeli hücre UPR’si için transkripsiyon faktörleri oldukları belirtilmiştir (114,115). Hücrede normalde ER membranında GRP78’e bağlı olarak inaktif şekilde bulunan ATF6, GRP78’e bağlanan ER luminal domain içeren sitozolik domainli tip II transmembran proteindir (p90ATF6) ve ERS aracılı proteolizis ile aktive olmaktadır. ERS geliştiğinde GRP78’den ayrılan ATF6’nın ER’den golgiye taşınması uyarılmış olur (116). Golgi organelinde ATF6 iki aşamalı bir işlemde geçer. İlk önce ATF6’nın ER lümeni domaini site-1 proteazla (S1P) ve transmembran domaini ise site-2

proteazla kesilerek aktif forma dönüşür. ATF6 aktif olduktan sonra nükleusa taşınır ve ERSE'ye bağlanarak UPR hedef genlerinin aktivasyonunu indükler. Hedef genlerin arasında; GRP78, GRP94, protein disülfid izomera, CHOP, XBP1, kalretikulin ve Herp genleri bulunmaktadır. Transkripsiyon faktörü olan XBP-1 de ERSE'ye bağlanır. XBP-1'e ait mRNA ERS'ne cevap olarak uç uca bağlanarak UPR hedef genlerinin uyarılmasında rol alır. XBP-1 mRNA'sının bağlanması IRE1 aktivasyonuna gereksinim duyar. IRE1, ER'da lokalize, serin treonin kinaz domaini ve endonükleaz domainine sahip çift aktiviteli enzimdir ve tip I transmembrandır. Stres olmadığı durumlarda, ER membranında ER lümeni domainine bağlanan GRP78 tarafından inaktif şekilde tutulur. ERS geliştiğinde ise GRP78 katlanmamış proteinlere bağlanarak IRE1'den ayrılır, bu da oligomerizasyon ve trans-otofosforilasyonla IRE1'in aktive olmasına neden olur (117).

XBP-1 mRNA'sı ERS sonucunda ATF-6 aktivasyonu aracılığıyla uyarılır ancak ATF6 mRNA'sı ERS ile uyarılmaz. Bu nedenle, ERS'nin düşük düzeyinde ve erken döneminde ATF6'nın, şiddetli ve geç fazında hem ATF6'nın hem de XBP-1'in aktive olduğu düşünülebilir (115).



Şekil 2.7. UPR sinyal yolları (Szegezdi'den, 107).

ERS'nin translasyonel düzeyde zayıflatılması: ER'da yeni sentezlenen proteinlerin katlanmasında sorun yaşanınca ilgili proteinin mRNA translasyonu zayıflatılır ve katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinlerin daha ileri düzeyde üretimi engellenmiş olur. Bu olay, eIF2α'nın fosforilasyonu aracılığıyla translasyon

aşamasının başlangıcında gerçekleşir. GRP78, lümene katlanmaya yardımcı olması için gönderildikten sonra sitozolik domainin trans otofosforilasyonu ve dimerizasyonu sonucu PERK aktivasyonu başlar. Aktive olan PERK eIF2 α 'nın 51. pozisyonundaki serini fosforilleyerek protein sentezini inhibe eder (118). PERK ER'de lokalize olmuş, kinaz aktiviteli sitozolik domainli tip I transmembran proteinidir. IRE1 α gibi, PERK'in aktivasyonu da GRP78'in ER lümeni domaininden ayrılması ile tetiklenir (117). PERK, translasyonel zayıflatmada esas hayati etkili olan düzenleyicidir ki bu olay ERS sırasında hücrenin devamlılığı için esansiyeldir. PERK sinyal mekanizmasının sonlandırılması PERK-Bip kompleksinin meydana gelmesi ve eIF2 α 'nın GADD34 ile defosforile edilmesiyle gerçekleşir (119). GADD34, ERS sonrası gelişen translasyonel baskılanmanın sonlandırılmasında negatif feed back döngüsüyle rol oynayabilmektedir. IRE1 α ve IRE1 β memeli hücrelerinde bilinen en önemli iki IRE1 proteinidir ve her ikisi de ERS sinyal iletim yollarında rol alırlar (120).

ERS'de hatalı katlanan proteinlerin bozunması: ERS'de katlanmamış veya hatalı katlanan proteinler ER kalite kontrol sistemi tarafından belirlenerek sitozole taşınır ve burada yıkılırlar. Bu işlem ER aracılı yıkım (ERAD) olarak tanımlanır. Bu işlemin ilk basamağı hatalı proteinlerin zamanında tanınmasıdır. Hatalı katlanan glikoproteinlerin bozunması işleminde sinyal tanıyıcı faktör olan Man8-bağlı lektin görev alır (121). İşlemin ikinci basamağı hatalı proteinlerin yakalanması ve katlanmalarıdır. Bu evrede kalneksin, kalretikulin ve ER dirençli lektin-benzeri şaperonlar hatalı katlanmış proteinlere bağlanırlar. Son aşamada ise bu proteinlerin sitozole taşınma işlemi meydana gelir. Sitozole geçen hatalı katlanmış proteinler proteozomlar tarafından yıkılırlar. ERS, ERAD mekanizmasıyla düzeltilemeyecek düzeyde ise, hücresel stresi engelleyebilmek ve ER homeostazisini tekrar sağlamak için UPR olarak adlandırılan yolun aktif hale geçirilmesi gerekmektedir. Yapılan çalışmalarda, hatalı katlanmış proteinlerin ER'da etkili bir şekilde bozunmasının UPR yollarını gerektirdiğini ve ERAD sisteminde rol alan birçok genin UPR ile uyarıldığını göstermektedir (122).

2.4.2. Endoplazmik Retikulum Stresi Sonucunda Apoptozisin Uyarılması

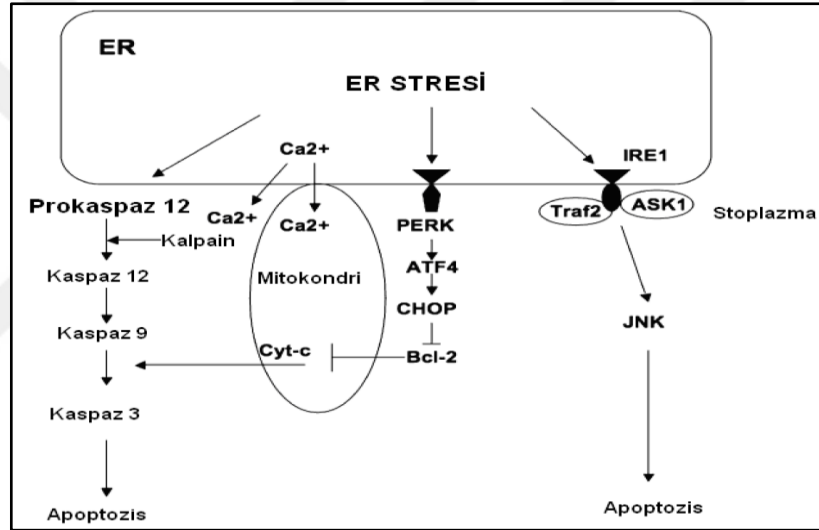
Eğer ER'un protein katlama kapasitesi ile protein sentezine talep arasındaki uyumsuzluk hatalı katlanmış protein lehine olursa UPR'nin aktivasyonu ERS ile baş etmek için yetersiz kalmaktadır ve böyle bir durumda hücre apoptozise yönlendirilmektedir. ERS ilişkili apoptozisin gelişiminde rol alan üç farklı yolak aşağıda maddeler halinde açıklanmıştır (Şekil 2.7) (123).

Transkripsiyonel uyarı yolağı: Birincisi, C/ERB protein ailesinin baskın bir negatif inhibitörü olarak görev yapan üyesi olan CHOP/GADD153 geninin transkripsiyonel düzeyde uyarılmasıdır. ERS sırasında en yüksek oranda indüklenebilen genler arasında bulunmaktadır. CHOP, fizyolojik koşullarda ya eksprese edilmez ya da düşük düzeyde eksprese edilmektedir. Ancak ERS durumunda, transkripsiyonel düzeyde güçlü bir şekilde uyarılır. CHOP'un aşırı ekspresyonu büyümede duraklamaya ve apoptozise sebep olur (124,125). UPR cevabında ER şaperonları gibi CHOP geninin transkripsiyonu hem IRE1 sinyal yolu hem de ATF6 sinyal yolu ile uyarılır. Ayrıca CHOP, PERK sinyal yolağında bulunan transkripsiyon faktörü ATF4'ün translasyonel uyarısı ile de indüklenir (126). ATF4 birçok hücre tipinde ERS sırasında yüksek düzeyde eksprese edilir. CHOP, transkripsiyon ve translasyon seviyesindeki kontrollerine ek olarak posttranslasyonel düzeyde de regüle edilebilmektedir. CHOP'un serin üzerindeki 78. ve 81. pozisyonlarda p38 MAP kinaz tarafından fosforilasyonu, transkripsiyonel aktivitesini artırır. CHOP, ERS ile genlerin uyarılmasına aracılık eder. CHOP'un ekspresyonu GADD34, ERO1, DR5, karbonik anhidraz VI ve TRB3 gibi proapoptotik proteinlerin indüksiyonuna yol açmaktadır (127).

c-Jun NH2-terminal kinaz (JNK) yolağı: ERS'de ikinci apoptotik yol JNK aktivasyon yolağıdır. Sinyal iletiminde görevli protein ailesinden olan JNK'lar, gen ekspresyonunu düzenleyen, strese karşı yaşam ve apoptozis arasında verilecek karara katılan proteinlerdir. ERS gerçekleştiğinde JNK'lar IRE1 α ve IRE1 β üzerinden aktive edilir. IRE1, Xbp1'deki rolünden bağımsız olarak JNK sinyal yolunu aktive ederek apoptozisi tetiklemektedir (128).

Kaspas-12 aktifleşmesi: Üçüncü yolak ise kaspas-12'nin aktivasyonu ile gerçekleşir. Kaspaslar, ER'la bağlantılı sistein proteaz ailesinin üyesidirler. Kaspasların aktivasyonu apoptozis için gereklidir ve kaspas-12, -3, -6, -7, -8 ve -

9'un işlevleri ERS'yle ilgili çalışmalarda gösterilmiştir. Kaspas 12, ERS ile tetiklenen apoptozisin anahtar mediyatorü olup ER membranının sitozolik tarafında yerleşmiştir. Kaspas-12, birçok yoldan ERS tarafından aktive edilebilmektedir. Birinci yol; sitoplazmik proteaz olan ve kalsiyum tarafından aktive edilen kalpainler tarafından aktive olmaktadır. ER'da kaspas-12'nin aktivasyonundan sonra kaspas-12, prokaspas-9'u keser ve kaspas-9 da prokaspas-3'ün aktivasyonuna yol açar ve sonuçta *cleaved caspase-3* ile apoptozis gerçekleşir (Şekil 2.8). İkinci yol; IRE1α/TRAF2 ile direk bağlantılı olarak otoaktivasyon meydana gelebilir. Üçüncü yol; kaspas-7 bazı apoptotik uyarılara cevap olarak ER'da transloke olur ve doğrudan kaspas-12 'yi aktive edebilir (129,130).



Şekil 2.8. ERS ile indüklenen apoptotik mekanizmalar (Rasheva'dan, 109).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 14.10.2020 tarih ve 153 sayılı onayı (Ek 1) alındıktan sonra Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde 27.04.2021-11.05.2021 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir. Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Işık mikroskopik, immunohistokimyasal ve moleküler biyolojik değerlendirmeler Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı tarafından yapılmıştır.

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmalarda deney hayvanı olarak, Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen ağırlıkları 30-50 g (ortalama 35 g) arasında değişen süten yeni kesilmiş 21 günlük 24 adet Wistar albino sıçan kullanıldı. Deney süresince sıçanlar sabit oda sıcaklığı ve nem ortamında, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olan standart laboratuvar koşullarında ve her bir kafeste 3'erli gruplar halinde muhafaza edilip su ve standart yem ile beslendiler. Cerrahi girişimin öncesinde ise 2 saat aç bırakıldılar.

3.2. Gruplar

Bu çalışmada, deney hayvanları her grupta 6'şar adet sıçan (3'er dişi ve erkek) olacak şekilde toplam 4 gruba ayrıldı (gruplardaki hayvan sayısı üniversitemiz İstatistik Danışmanlık, Uygulama ve Araştırma Merkezi'nin önerisine göre belirlenmiştir).

I. Kontrol grubu (K grubu, n=6)

II. Sham grubu (S grubu, n=6)

III. Parsiyel üreteral obstrüksiyon grubu (PÜO grubu, n=6)

IV. Komplet üreteral obstrüksiyon grubu (KÜO grubu, n=6)

3.3. Anestezi ve Cerrahi İşlemler

Kontrol (K) grubu dışındaki tüm gruplarda cerrahi işlemler ketamin hidroklorür (50 mg/kg, intraperitoneal) ve xylazine hidroklorür (10 mg/kg, intraperitoneal) anestezisi altında gerçekleştirildi. Ameliyat edilecek tüm sıçanlarda, karın derisi traş edilip antiseptik solüsyon (%10'luk povidon iyot) ile saha temizliği yapıldıktan sonra laparotomi (sol üst transvers insizyon) yapıp böbrek lojuna ulaşıldı ve aşağıda belirtilen işlemler gerçekleştirildi (Şekil 3.1).

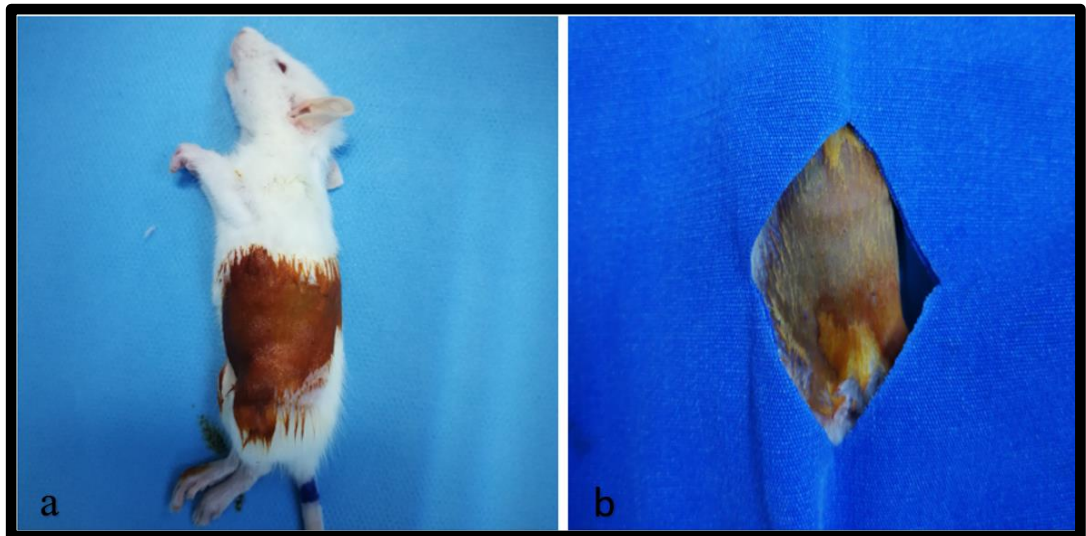
Kontrol (K) grubu: Bu gruba herhangi bir anestezi ya da cerrahi işlem uygulanmadı.

Sham (S) grubu: Laparotomi sonrası proksimal üreter psoas kasından yalnızca diseke edilip herhangi bir obstrüksiyon işlemi uygulanmadı (Şekil 3.2).

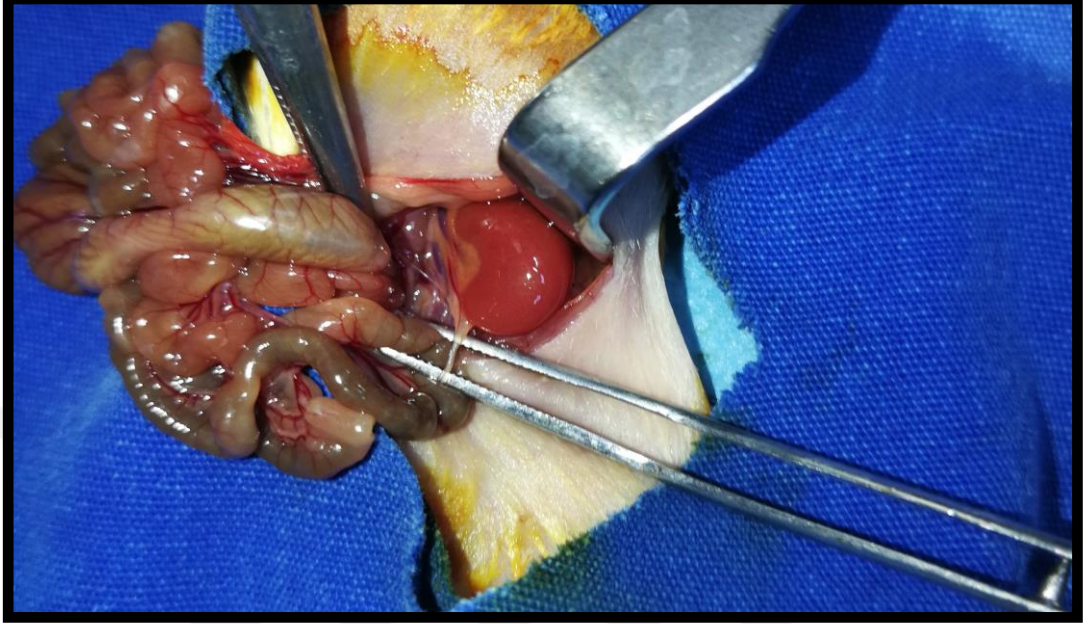
Parsiyel üreteral obstrüksiyon (PÜO) grubu: Ulm ve Miller'ın tanımladığı tekniğe uygun olarak gerçekleştirildi (132). Özetle, laparotomi yapılarak proksimal üreter diseke edilip serbestleştirildi ve psoas kasına iki noktadan 6/0 polipropilen sütür konularak gömüldü (Şekil 3.3).

Komplet üreteral obstrüksiyon (KÜO) grubu: Laparotomi yapılarak proksimal üreter diseke edilip serbestleştirildi ve 5/0 ipek ile tam obstrüksiyon oluşturacak şekilde iki noktadan bağlandı (133) (Şekil 3.4).

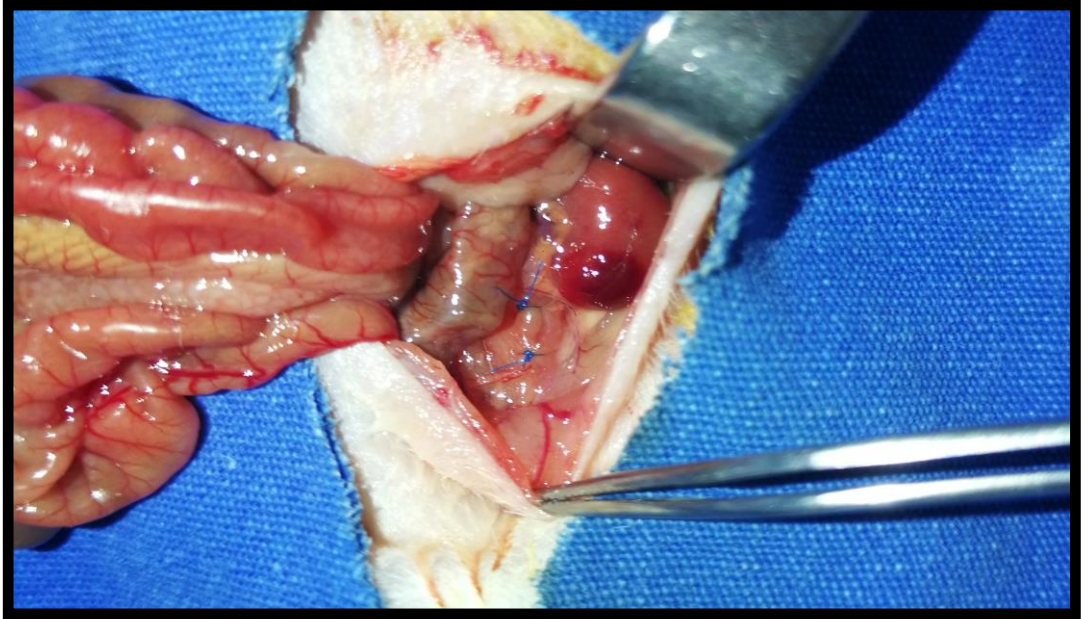
Tüm cerrahi işlemlerden sonra periton ve karın kasları/fasyaları tek tabaka olarak 5/0 sütür (poliglikolik asit), deri insizyonu ise 5/0 sütür (polipropilen) kullanılarak kapatıldı.



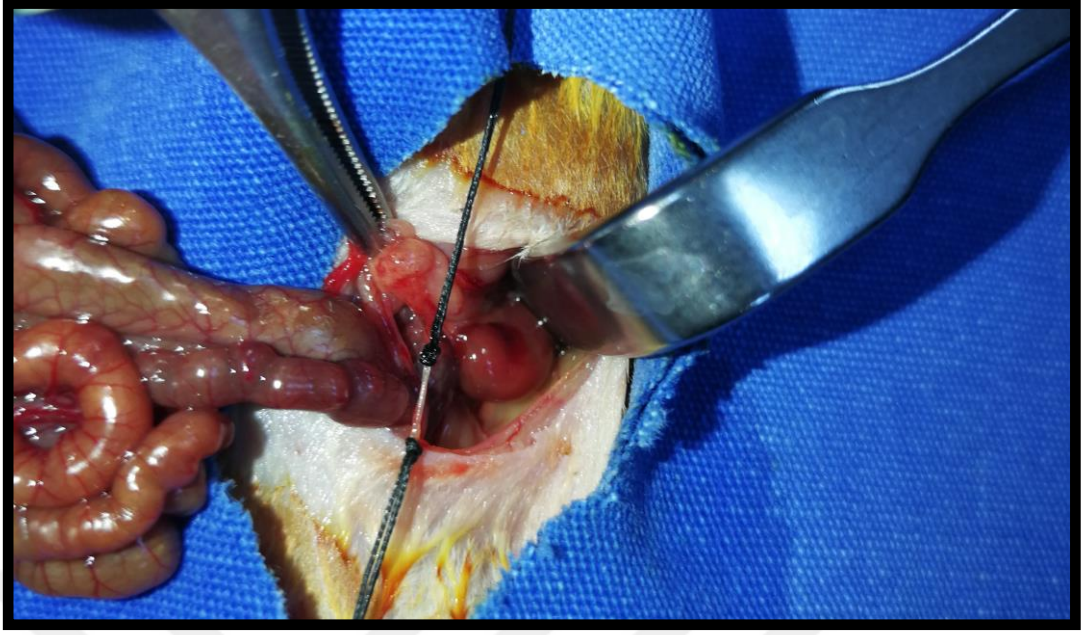
Şekil 3.1. Ameliyat öncesi cerrahi alanın hazırlık görüntüleri. a) Ameliyat öncesi deney hayvanının pozisyonu, b) Ameliyat öncesi deney hayvanının steril şekilde örtülmesi.



Şekil 3.2. S grubunda üreteral obstrüksiyon işleminin uygulanmadığı görüntü.



Şekil 3.3. PÜO grubunda üreterin psoas kasına gömüldüğü görüntü.



Şekil 3.4. KÜO grubunda üreterin iki noktadan bağlandığı görüntü.

Postoperatif 14. günde sıçanlar yüksek dozda (normal dozun 5 katı) ketamin/ksilazin intraperitoneal uygulanıp sakrifiye edildikten sonra ipsilateral ve kontralateral nefroüretrektomi yapıldı. PÜO grubunda proksimal üreterin ve pelvisin belirgin dilate olduğu ve KÜO grubunda böbreklerin de ileri derecede hidronefrotik olduklarının izlenmesi üzerine deneysel ÜPO'un oluştuğu kabul edildi. Normal koşullarda PÜO bölgesinden aşağıya doğru idrar akışı proksimal üreter dilate olmasına rağmen izlenmezken, böbreğin sıkılması ile idrar akışı izlendi. Her bir böbrek dokusu iki parçaya bölünüp biri histopatolojik (%4'lük paraformaldehit solüsyonunda), diğeri moleküler biyolojik (sıvı nitrojende -80°C 'de dondurularak) incelemeler için uygun koşullarda laboratuvara gönderildi.

3.4. Makroskopik/Morfolojik Değerlendirme Yöntemi

PÜO ve KÜO gruplarına ait nefroüretrektomi materyalleri Şekil 3.5 ve Şekil 3.6'da gösterilmiştir. Gruplar oluşturulduktan sonra çıkartılan böbreklerin hacimleri hassas mezür (0,2 ml taksimat, 0,1 ml hassasiyet) ile ölçüldü ve ağırlığındaki değişiklikler de hassas terazi (Mettler Toledo PG503-S DeltaRange, 0.001 g hassasiyet) ile tespit edilerek değerlendirildi.



Şekil 3.5. PÜO grubunda sakrifikasyon sonrası eksize edilen böbrekler. a) İpsilateral (sol) ve kontralateral, b) İpsilateral (obstrüksiyon oluşturulan bölgeyle birlikte).



Şekil 3.6. KÜO grubunda sakrifikasyon sonrası eksize edilen böbreklerin görüntüsü. (ipsilateral (sol) ve kontralateral (sağ))

3.5. H&E Boyama ile Histopatolojik Değerlendirme Yöntemi

Paraformaldehit solüsyonunda (%4'lük) tespit edilen doku örnekleri yıkamanın ardından artan alkol serilerinden geçirildi. Xylol ile şeffaflaştırılmasını takiben parafin ile bloklandı. Elde edilen parafin bloklardan 5 mikrometrelilik seri kesitler

süperfrost lamlara alındı. Her grup için alınan kesitlere histopatolojik değerlendirmenin yapılabilmesi amacıyla H&E boyanma protokolü uygulandı. Lamlara alınan 5 mikrometre kalınlığındaki parafin kesitler 1 gece boyunca 56°C’de etüvde tutuldu. Deparafinizasyon için parafin kesitler 2 defa 10’ar dakika ksilolden geçirildi. Daha sonra derecesi giderek azalan alkol serilerinin (%100, %90, %80, %70) her birinde 5’er dakika bekletildi. Distile su ile 5 dakika muamele edildi. Hematoksilen’de 1,5 dk bekledikten sonra yıkandı. Eozin’de 1-2 saniye bekletilip tekrar yıkandı. Daha sonra kesitler distile suya alınıp derecesi giderek artan alkol serilerinin (%70, %80, %90, %100) her birinde yine 5’er dakika bekletildi ve daha sonra 2 defa 10’ar dakika ksilolden geçirildi. Entellan ile kapatma yapıldı. H&E boyanan preparatlar ışık mikroskopi ile fotoğraflanarak histopatolojik değerlendirme yapıldı.

3.6. İmmunohistokimyasal Boyama ile Değerlendirme Yöntemi

Böbrek bloklarından alınan 5 mikrometrelik kesitlerde ERS proteinleri CHOP, GRP78 ve cleavead caspase-3’ün lokalizasyonlarının değerlendirilmesi için aşağıdaki protokol uygulandı;

Superfrost plus lamlara alınan 5 mikrometre kalınlığındaki parafin kesitler 4 saat boyunca 56°C’de etüvde tutuldu. Deparafinizasyon için parafin kesitler 2 defa 10’ar dakika ksilolden geçirildi. Daha sonra derecesi giderek azalan alkol serilerinin (%100, %90, %80, %70) her birinde 5’er dakika bekletildi. Ardından distile su ile 5 dakika muamele edildi. Dokudaki antijenik maskelenmenin ortadan kaldırılması için kesitler, 200 ml sitrat tamponu (pH:6.0; 1000 ml distile suda 3,57 g sodyum sitrat (10mM)) içine alındı ve mikrodalga fırında (750 watt) 3 defa 5’er dakika tutuldu. Bu işlemten sonra sodyum sitrat solüsyonu içerisinde 20 dakika boyunca oda ısısında bekletildi. Dokuların çevresi hidrofobik kalemle çizildikten sonra 3 defa 5’er dakika PBS’den geçirildi. Bir sonraki basamakta dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesini doyumak için kesitler 20 dakika boyunca %3 hidrojen peroksit solüsyonu ile muamele edildi. Kesitler 3 defa 5’er dakika PBS’de yıkandıktan sonra dokulardaki özgül olmayan antikor bağlanmasını önlemek amacıyla oda sıcaklığında sekonder antikorun elde edildiği hayvan türünün serumundan oluşan bloklama solüsyonu ile 7 dakika muamele edildi. Hemen

sonrasında serum, kesitler üzerinden uzaklaştırıldı ve dokular anti-CHOP, anti-GRP78 ve anti-cleaved caspase-3 primer antikorları ile +4°C’de gece boyu inkübe edildi. Kontrol kesitlerine uygun serum ya da izotip IgG uygulandı. Kesitler primer antikorlar ile inkübasyondan sonra, 3 defa 5’er dakika PBS ile yıkandı. Daha sonra kesitler, biyotinle işaretlenmiş sekonder antikör ile 30 dakika ve streptavidin ile 30 dakika inkübe edildi. Her iki uygulama sonrasında da PBS ile 3 defa 5’er dakika yıkama yapıldı. Sekonder antikör ile birleştirilmiş peroksidaz enzimi için substrat olan DAB kromojeni ile dokular 1-3 dakika muamele edildi. Enzim substrat etkileşimi sonucunda oluşan ürün renk olarak mikroskopta gözlemlendi ve hematoksilin ile 5-6 saniye zıt boyama yapılarak akar musluk suyunda yıkandı. Daha sonra kesitler distile suya alınıp derecesi giderek artan alkol serilerinin her birinde 5’er dakika (%70, %80, %90, %100) bekletildi ve daha sonra 2 defa 10’ar dakika ksilolden geçirildi ve slaytlar entellan ile kapatıldı. Boyanan preparatlar mikroskop ile fotoğraflanarak glomeruler, tübüler ve interstisyel hücreler H-score analizi ile değerlendirildi.

3.7. Kantitatif Real-Time PCR (RT-PCR) Değerlendirme Yöntemi

Sıvı nitrojenle dondurulmuş doku örneklerinde kantitatif RT-PCR yöntemiyle CHOP (Gadd153), Grp78 ve β -aktin gen ekspresyonu mRNA düzeyinde miktarsal olarak değerlendirildi. Özetle; mRNA izolasyonu, izole edilen mRNA’lardan reverse transkripsiyon ile cDNA eldesi ve elde edilen cDNA örnekleri ile RT-PCR yapılarak her bir genin amplifikasyonu gerçekleştirildi. Bu işlemlerin basamakları aşağıda ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

Total mRNA izolasyonu: Total mRNA izolasyonunun RNAqueous-Micro (Micro Scale RNA Isolation Kit) kiti kullanılarak aşağıdaki basamaklar halinde gerçekleştirildi.

- I. Örnekler steril 0.5 ml tüpler içine konuldu ve üzerine 100 μ l lizis solüsyonu konulup +4°C’de kitte belirtilen sürede tutuldu.
- II. Üzerine 50 μ l etanol konuldu ve vorteks ile karıştırıldı.
- III. Lizat + etanol karışımı belirli bir por çapına sahip micro filtreden 20 saniye 12.000 rpm’de döndürülerek geçirildi. Böylece karışımdaki RNA’nın tamamının filtreden geçmesi sağlandı.

IV. Daha önceden oda ısısına getirilmiş 180 µl yıkama solüsyonu ile filtre 20 saniye 12.000 rpm’de döndürülerek yıkandı. Prosedürün bu basamağı 2 kez tekrar edildi.

V. Ardından 13.000 rpm hızda 1 dakika santrifüj edildi.

VI. Mikro filtreye sahip tüp mikro ayırma ya da yıkama tüpüne aktarıldı. +4°C’de saklanan ve kullanım öncesi 75°C’de önceden ısıtılan ayırma solusyonundan 5 µl filtrenin tam merkezine gelecek şekilde konuldu. Kapağı kapatılıp oda ısısında 1 dakika bekletildikten sonra RNA’nın filtreden uzaklaşması için 13.000 rpm hızda 30 saniye santrifüj edildi.

VII. Aynı işlem 5 µl ayırma solüsyonu ile bir kez daha gerçekleştirildi, RNA’ların mikro ayırma tüpüne toplanması sağlandı.

VIII. Mikro ayırma tüpündeki karışımın hacminin %10’u kadar 10x DNaz I tamponu ve 10x DNaz I konulup 15 dakika 37°C’de inkübe edildi.

IX. Tüpteki hacmin %10’u kadar 10x DNaz inaktivasyon solüsyonu konulup, iyice karıştırıldı ve oda ısısında 2 dk bekletildi.

X. 13 000 rpm’de 1 dakika santrifüj edilip DNA inaktivasyon solüsyonunun uzaklaşması sağlandı ve izole edilen RNA yeni bir tüpe konuldu.

XI. İzole edilen RNA -80°C saklandı.

Complementer DNA (cDNA) eldesi: cDNA eldesi aşağıda belirtilen basamaklarla gerçekleştirildi.

I. Her bir tüp için hazırlanan temel karışım aşağıdaki tabloda belirtilmiştir. Her tüpe koyulan temel karışımın aynı içerik ve homojenitede olmasını sağlamak açısından örnek sayısına göre ana bir karışım hazırlanıp tüplere bu karışımdan belli bir miktar aktarıldı.

Reaktantlar	Hacim	Final konsantrasyon
10x Tampon RT	2.0 µl	1x
dNTP (her bir dNTP 2.5 mM’dır.)	4.0 µl	0.5 mM/ her bir dNTP
RNaz inhibitör (10 unit/µL)	1.0 µl	10 unit/ 20 µl reaksiyon karışımında
MMLV-revers transkriptaz	1.0 µl	100 unit/ 20 µl reaksiyon karışımında
Toplam	8.0 µl	

II. 0.2 µl'lik reaksiyon tüplerine izole edilmiş olan RNA'dan 10 µl konuldu. Ayrıca her bir tüpe 2 µl oligo-dT (50 µM, final konsantrasyon 5 µM olur) eklendi.

III. Her bir tüpe 8 µl temel karışımdan konulup karıştırıldı ve kısa süre döndürüldü.

IV. Reaksiyon tüpleri, 42°C'de 60 dakika inkübe edildi.

V. Daha sonra, 92°C'de 10 dakika inkübasyon işlemi sonunda elde edilen cDNA'lar, -20°C'de saklandı.

Kantitatif RT-PCR uygulama basamakları: Göreli ve kesin mRNA miktarını belirlemek için sıklıkla tercih edilen bir yöntem olan kantitatif RT-PCR tekniği, gen ekspresyonu çalışmalarında yoğun olarak kullanılmaktadır. Bu teknikte, her hücrede belirli düzeyde eksprese olduğu bilinen house-keeping genin ekspresyonu temel alınarak gruplar arasında değerlendirilen RNA miktarları ve bu gruplardaki CHOP, GRP78 ve β-aktin gen ekspresyon düzeyi karşılaştırıldı. Kantitatif RT-PCR uygulama basamakları aşağıda belirtilmiştir.

I. Yukarıda belirtildiği gibi RNA izolasyonu ve cDNA eldesi gerçekleştirildi.

II. Aşağıdaki tabloda belirtilen reaktantlar konularak reaksiyon karışımı oluşturuldu.

Reaktantlar	Miktarları
2XIQ SbrGreen Supermix	12.5 µl
Primer 1	10 pmol olacak miktarda
Primer 2	10 pmol olacak miktarda
Distile su	25 µl'ye tamamlandı

Amplifikasyon, 30 siklusa gerçekleştirildi. Başlangıç denatürasyonu: 95 °C'de 5 dakika; 30 siklus: 92 °C'de 30 saniye, 65 °C'de 20 saniye, 72 °C'de 1 dakika uygulanması planlandı. Örnekler analiz sonucunda, oluşturduğumuz standardın aralığında ve referans DNA ile kantitatif RT-PCR aletinde okundu ve yazılım programı yardımıyla belirlendi. Ortaya çıkan eşik değeri siklusunda ve diğer siklularda Gadd153 (CHOP), GRP78 ve β-aktin gen ekspresyon düzeyi miktarsal olarak belirlendi.

Sonuçlar $2[-\Delta\Delta C(T)]$ ($2^{-\Delta\Delta CT}$) metodu kullanılarak hesaplandı. Bu yöntemde; her bir örnek için ayrı ayrı olarak, test edilen genin Ct değeri ile endojen

kontrol olarak kullanılan rRNA'nın verdiği Ct değerleri birbirinden çıkarılarak ΔC_t değerleri belirlendi.

3.8. İstatistiksel Analiz

Yapılan makroskopik/morfolojik ölçümlerden elde edilen veriler IBM SPSS Statistics 18 © Copyright SPSS Inc. 1989, 2010 yazılımı kullanılarak analiz edilmiştir. Sürekli değerkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Smirnov testi ile incelenmiştir. Çalışmada yer alan sürekli değerkenler ortalama, standart sapma, ortanca, en küçük ve en büyük değerleriyle sunulmuştur. Parametrik test varsayımları sağlanmadığu için bağımsız iki grup ortalama karşılaştırmalarında Mann Whitney U testi kullanılmıştır.

Yapılan immünohistokimyasal ve moleküler biyolojik inceleme sonunda ekspresyon saptanan hücreler H-score kullanılarak değerlendirilmiştir. H-score ve kantitatif RT-PCR analizlerimizin sonuçları, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olup olmadığını belirlemek için GraphPad (Prisms 8) programı kullanılarak One way ANOVA ve Student t-testi ile analiz edilmiştir. Çalışmada istatistiksel anlamlılık düzeyi 0,05 olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Bu çalışmada tek taraflı PÜO ve KÜO oluşturulan sıçanların ipsilateral ve kontralateral böbreklerinde ERS oluşup oluşmadığı temel olarak immunhistokimyasal ve moleküler biyolojik yöntemler ile değerlendirildi. Ancak bunların öncesinde tüm grupların makroskopik/morfolojik ve H&E ile boyanma özellikleri de incelenmiştir.

4.1. Makroskopik/Morfolojik Bulgular

K ve S gruplarında, 6'şar sıçan değerlendirildi. Her iki grupta da ipsilateral ve kontralateral böbreklerin boyut ve renkleri makroskopik olarak birbirine benzerdi. Herhangi bir anormallik saptanmadı. Yalnızca S grubunda ameliyat alanında çevre dokularda az miktarda adezyon olduğu görüldü.

PÜO grubunda, 6 sıçan değerlendirildi. Bu grupta da her iki taraftaki böbreklerin boyut ve renkleri makroskopik olarak birbirine benzerdi. Kontralateral böbreklerde herhangi bir anormallik görülmedi. İpsilateral tarafta ameliyat alanında çevre dokularda ciddi adezyonlar mevcuttu. Omentum ve çevre dokular böbrek kapsülüne yapıştı. Üreterin psoas kasına gömüldüğü alanda ileri derecede fibrotik yapışıklılar vardı. Obstrüksiyonun proksimalinde üreter ve pelviste gözle görülür dilatasyon mevcuttu ancak böbreğin boyutunda gözle görülür büyüme izlenmedi. Obstrüksiyonun distaline spontan idrar akışı yokken böbreğin sıkılmasıyla idrar akışının olduğu görüldü.

KÜO grubunda, 6 sıçan değerlendirildi. İpsilateral böbrek kontralateral böbreğe göre belirgin büyüktü ve kistik poş halini almıştı. Kontralateral böbrek normal görünümdeydi. Ameliyat alanında çevre dokulara ileri derecede adezyonlar olması dikkati çekti. Ne spontan olarak ne de böbreğe kompresyon uygulanması ile obstrüksiyonun distaline idrar akışı gözlenmedi.

Makroskopik kesitlere bakıldığında PÜO grubunda böbrek medullasında parsiyel atrofi gözlenmiştir. KÜO grubu böbreklerinde ise medulla ve korteks alanlarında ileri derecede atrofi ve böbrek içerisinde sıvı birikimi izlenmiş ve sıvı birikimine bağlı olarak böbreğin hacminde belirgin artış görülmüştür.

Morfolojik olarak her bir gruptaki sıçanların ağırlıkları, eksize edilen böbreklerin ağırlık ve hacimleri de incelenmiştir. K grubu ile S grubu arasında bu morfolojik ölçütler açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Gruplar arasındaki diğer kıyaslamalar aşağıda açıklanmıştır.

K grubu ile PÜO grubundaki sıçanlar karşılaştırılarak analiz edilmiş ve bulgular çizelge 4.1 ile gösterilmiştir. Yapılan analizlere göre deney başlangıcında sıçanların ağırlıkları kontrol grubunda ortalama 39,00 (36,00-41,00) gram iken PÜO grubunda ortalama 35,50 (30,00-40,00) gramdır ($p>0,05$). Deney sonunda sıçanların ağırlıkları kontrol grubunda ortalama 91,50 (78,00-110,00) gram iken PÜO grubunda ortalama 90,50 (82,00-100,00) gramdır ($p>0,05$). Deney sonu ve başlangıcı ağırlık farkı ise kontrol grubunda ortalama 51,00 (41,00-74,00) gram iken PÜO grubunda ortalama 56,50 (50,00-61,00) gramdır. Tüm bu farklar istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bulunmamıştır ($p>0,05$).

Eksize edilen böbreklerin ağırlıkları analiz edildiğinde eksize edilen ipsilateral böbrek ağırlıkları kontrol grubunda ortalama 1,40 (1,30-1,70) gram, PÜO grubunda ortalama $1,98\pm0,31$ gramdır. Eksize edilen sol böbrek ağırlığı PÜO grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Eksize edilen kontralateral böbrek ağırlığı kontrol grubunda ortalama 1,65 (1,50-1,80) gram, PÜO grubunda ortalama $1,91\pm0,24$ gramdır, bu fark istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde değildir ($p>0,05$).

Eksize edilen ipsilateral böbrek hacmi kontrol grubunda ortalama 0,40 (0,30-0,50) ml, PÜO grubunda ortalama 0,50 (0,40-0,70) ml'dir. Eksize edilen kontralateral böbrek hacmi ise kontrol grubunda ortalama 0,50 (0,40-0,60) ml, PÜO grubunda ortalama 0,50 (0,50-0,60) ml'dir. Bu farklar istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bulunmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. K grubu ile PÜO grubu karşılaştırılması

Değişken	Kontrol (n:6)		PÜO (n:6)		P değeri
	Ort±sd	Ortanca (min- maks)	Ort±sd	Ortanca (min- maks)	
Sıçanların ağırlıkları (gram)					
Deney başlangıcı	38,66±1,96	39,00 (36,00-41,00)	35,00±3,57	35,50 (30,00-40,00)	0,065
Deney sonu	93,00±13,38	91,50 (78,00-110,00)	90,83±7,41	90,50 (82,00-100,00)	0,937
Ağırlık farkı	54,33±13,45	51,00 (41,00-74,00)	55,83±4,62	56,50 (50,00-61,00)	0,699
Eksize edilen böbreklerin ağırlıkları (gram)					
Sol	1,45±0,13	1,40 (1,30-1,70)	1,98±0,31	1,90 (1,70-2,60)	0,002
Sağ	1,66±0,12	1,65 (1,50-1,80)	1,91±0,24	1,90 (1,60-2,30)	0,065
Eksize edilen böbreklerin hacimleri (ml)					
Sol	0,40±0,06	0,40 (0,30-0,50)	0,51±0,11	0,50 (0,40-0,70)	0,093
Sağ	0,48±0,07	0,50 (0,40-0,60)	0,51±0,04	0,50 (0,50-0,60)	0,485

K grubu ile KÜO grubundaki sıçanlar karşılaştırılarak analiz edilmiş ve bulgular çizelge 4.2’de gösterilmiştir. Yapılan analizlere göre deney başlangıcında sıçanların ağırlıkları K grubunda ortalama 39,00 (36,00-41,00) gram iken KÜO grubunda ortalama 31,00 (30,00-35,00) gramdır ($p<0,05$). Deney sonunda sıçanların ağırlıkları kontrol grubunda ortalama 91,50 (78,00-110,00) gram, KÜO grubunda 80,50 (60,00-88,00) gramdır ($p>0,05$). Deney sonu ve başı arasındaki ağırlık farkları kontrol grubunda ortalama 51,00 (41,00-74,00) gram, KÜO grubunda 46,66±10,65 gram olarak hesaplanmıştır. Tüm bu farklar istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

Eksize edilen böbreklerin ağırlıkları analiz edildiğinde hem ipsilateral hem de kontralateral böbreklerde anlamlı farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Eksize edilen ipsilateral böbrek ağırlıkları kontrol grubunda 1,40 (1,30-1,70) gram iken KÜO grubunda 9,50±1,30 gramdır. Eksize edilen kontralateral böbrek ağırlığı ise kontrol grubunda 1,65 (1,50-1,80) gram iken KÜO grubunda 2,00 (1,80-2,30) gramdır. Her

iki böbreğin ağırlığı da KÜO grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur ($p<0,05$).

Eksize edilen böbreklerin hacimleri analiz edildiğinde ipsilateral böbrek hacimleri kontrol grubunda 0,40 (0,30-0,50) ml iken KÜO grubunda 2,50 (2,00-3,50) ml olduğu görülmüştür. KÜO grubunda eksize edilen ipsilateral böbrek hacimleri K grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Eksize edilen kontralateral böbrek hacimleri ise her iki grupta benzer bulunmuştur. K grubu: 0,50 (0,40-0,60) ml, KÜO grubu: 0,55 (0,50-0,60) ml, $p>0,05$ (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. K grubu ile KÜO grubu karşılaştırılması

Değişken	Kontrol (n:6)		KÜO (n:6)		P değeri
	Ort±sd	Ortanca (min-maks)	Ort±sd	Ortanca (min-maks)	
Sıçanların ağırlıkları (gram)					
Deney başlangıcı	38,66±1,96	39,00 (36,00-41,00)	32,00±2,36	31,00 (30,00-35,00)	0,002
Deney sonu	93,00±13,38	91,50 (78,00-110,00)	78,66±10,03	80,50 (60,00-88,00)	0,132
Ağırlık farkı	54,33±13,45	51,00 (41,00-74,00)	46,66±10,65	48,00 (29,00-58,00)	0,394
Eksize edilen böbreklerin ağırlıkları (gram)					
Sol	1,45±0,13	1,40 (1,30-1,70)	9,50±1,30	9,35 (7,80-11,00)	0,002
Sağ	1,66±0,12	1,65 (1,50-1,80)	2,00±0,18	2,00 (1,80-2,30)	0,009
Eksize edilen böbreklerin hacimleri (ml)					
Sol	0,40±0,06	0,40 (0,30-0,50)	2,61±0,54	2,50 (2,00-3,50)	0,002
Sağ	0,48±0,07	0,50 (0,40-0,60)	0,55±0,05	0,55 (0,50-0,60)	0,180

KÜO ile PÜO grubundaki sıçanlar karşılaştırılarak analiz edilmiş ve bulgular çizelge 4.3 ile gösterilmiştir. KÜO grubundaki sıçanların ipsilateral böbrekleri ortalama 9,35 (7,80-11,00) gram, kontralateral böbrekleri 2,00 (1,80-2,30) gramdır ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Hacim olarak karşılaştırıldığında ise KÜO grubundaki sıçanların ipsilateral böbrekleri ortalama 2,50 (2,00-3,50) ml, kontralateral böbrekleri 0,55 (0,50-0,60) ml'dir ve bu fark da istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). PÜO grubundaki sıçanların ipsilateral böbrekleri ortalama

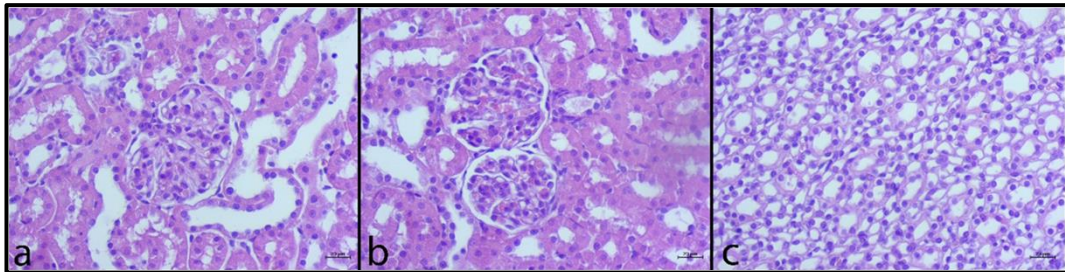
1,90 (1,70-2,60) gram, kontralateral böbrekleri 1,90 (1,60-2,30) gramdır. Hacim olarak karşılaştırıldığında ise PÜO grubundaki sıçanların sol böbrekleri ortalama 0,50 (0,40-0,70) ml, sağ böbrekleri 0,50 (0,50-0,60) ml'dir ve bu farklar istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). KÜO grubundaki sıçanların ipsilateral böbrekleri kontralateral böbreklerine göre daha ağır ve hacimleri daha yüksek iken PÜO grubunda her iki böbrek arasında fark bulunmamıştır (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. KÜO ve PÜO grupları için sol ve sağ böbrek karşılaştırması

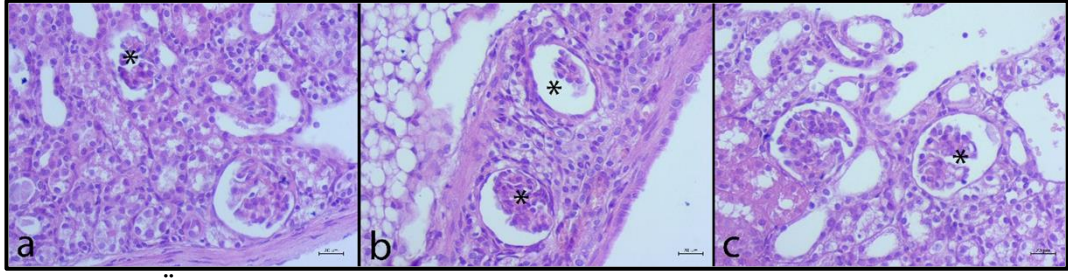
Değişken	Sol böbrek (n:6)		Sağ böbrek (n:6)		P değeri
	Ort±sd	Ortanca (min-maks)	Ort±sd	Ortanca (min-maks)	
Ağırlık (gram)					
KÜO	9,50±1,30	9,35 (7,80-11,00)	2,00±0,18	2,00 (1,80-2,30)	0,002
PÜO	1,98±0,31	1,90 (1,70-2,60)	1,91±0,24	1,90 (1,60-2,30)	0,937
Hacim (ml)					
KÜO	2,61±0,54	2,50 (2,00-3,50)	0,55±0,05	0,55 (0,50-0,60)	0,002
PÜO	0,51±0,11	0,50 (0,40-0,70)	0,51±0,04	0,50 (0,50-0,60)	0,818

4.2. H&E Boyamasına Ait Histopatolojik Bulgular

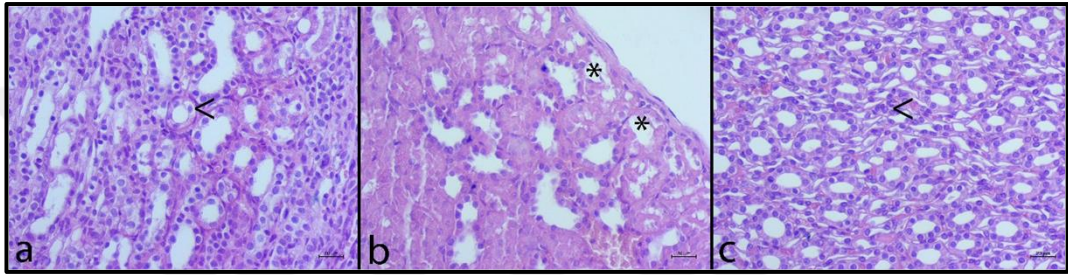
K grubunun korteks ve medullasındakilerle kıyaslandığında, PÜO ve KÜO gruplarının glomerüllerinde büzüşme ve Bowman aralığında artış saptanmıştır (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2). PÜO ve KÜO gruplarının tübüllerinde dejenerasyon görülmüştür (Şekil 4.3). PÜO ve KÜO gruplarının böbrek medullasında hücresel debris alanları ve vakuolizasyon dikkati çekmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. K gruplarında görülen normal ve sağlıklı böbrekler. a ve b) Sağlam kortikal glomerül ve tübül yapıları, c) Sağlıklı medulla yapısı (40X).



Şekil 4.2. KÜO grubunda görülen patolojik glomerül yapıları. a) * ile işaretli alanda normal glomerüle kıyasla daha küçük glomerül yapısı izlenmektedir, b) * ile işaretli alanda Bowman aralığı normal böbreğe kıyasla daha geniş görülmektedir, c) * ile işaretli alanda hem Bowman aralığında genişleme hem de glomerüllerde büzülme görülmüştür (40X).



Şekil 4.3. KÜO ve PÜO deney gruplarında görülen anormal yapılar. a) KÜO grubunda medullada < ile işaretli hücresel vakuolizasyon alanları, b) KÜO grubunda * ile işaretli dejenere tübüller, c) PÜO'da < ile işaretli medullada hücresel debris alanları izlenmektedir (40X).

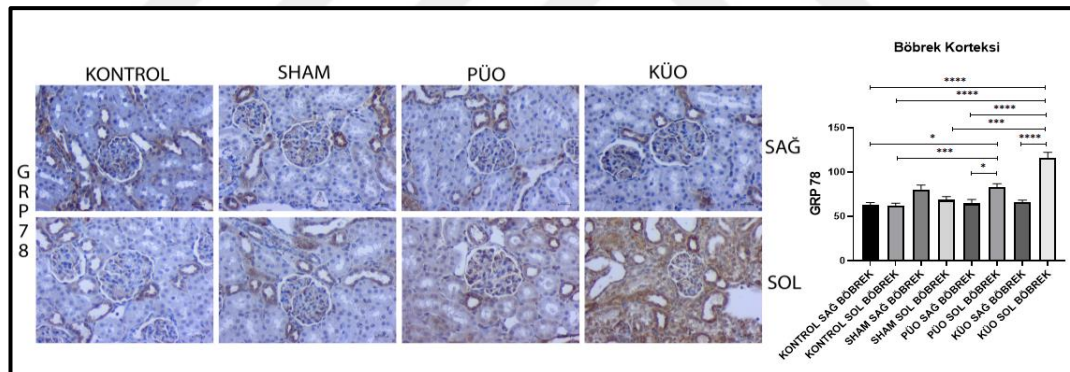
4.3. İmmunohistokimyasal Bulgular

4.3.1. GRP78 Ekspresyonu

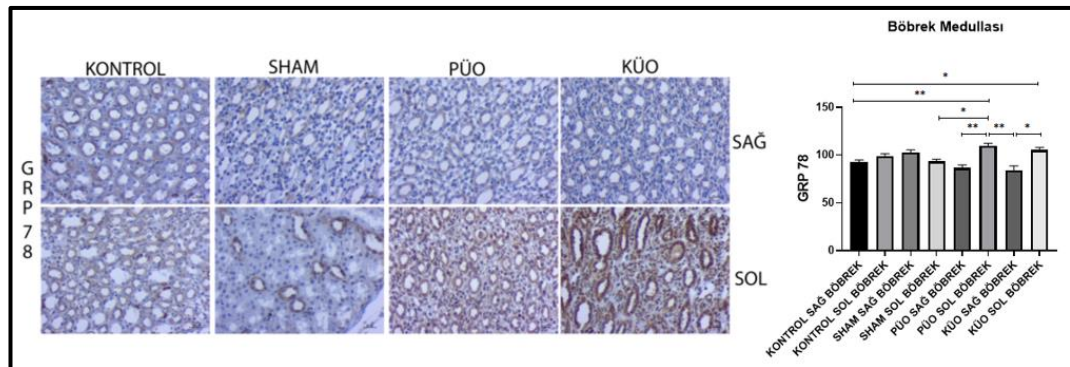
K ve S gruplarındaki ipsilateral ve kontralateral böbrek kortekslerinde birbirlerine kıyasla anlamlı ekspresyon artışı gözlenmemiştir ($p>0.05$). PÜO uygulanan sıçanların ipsilateral böbrek kortekslerinde K ve S gruplarının ipsilateral böbreklerine kıyasla anlamlı ekspresyon artışı gözlenmiştir ($p<0.0002$). PÜO uygulanan sıçanların ipsilateral böbrek kortekslerinde kontralateral böbreklere kıyasla anlamlı ekspresyon artışı gözlenmiştir ($p<0.05$). KÜO uygulanan sıçanların ipsilateral böbrek kortekslerinde K ve S gruplarının ipsilateral böbreklerine kıyasla anlamlı ekspresyon artışı gözlenmiştir ($p<0.0001$). KÜO uygulanan sıçanların ipsilateral böbrek kortekslerinde kontralateral böbreklere kıyasla anlamlı ekspresyon artışı gözlenmiştir ($p<0.05$). PÜO ve KÜO grupları arasında ipsilateral ve kontralateral böbrek kortekslerindeki GRP78 ekspresyonu açısından anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0.05$). Kortekste GRP78 protein ekspresyonu daha çok

distal tübüllerde görülmüştür ve glomerüllerin damar kutuplarına bakan tübüllerinde daha fazla lokalize olmuştur (Şekil 4.4).

K ve S gruplarındaki ipsilateral ve kontralateral böbrek medullalarında birbirlerine kıyasla anlamlı ekspresyon artışı gözlenmemiştir ($p>0.05$). PÜO uygulanan sıçanların ipsilateral böbrek medullalarında K ve S gruplarının ipsilateral böbreklerine kıyasla anlamlı ekspresyon artışı gözlenmiştir ($p<0.003$). PÜO uygulanan sıçanların ipsilateral böbrek kortekslerinde kontralateral böbreklere kıyasla anlamlı ekspresyon artışı gözlenmiştir ($p<0.003$). KÜO uygulanan sıçanların ipsilateral böbrek medullalarında K ve S gruplarının ipsilateral böbreklerine kıyasla anlamlı ekspresyon artışı gözlenmiştir ($p<0.05$). KÜO uygulanan sıçanların ipsilateral böbrek medullalarında kontralateral böbreklere kıyasla anlamlı ekspresyon artışı gözlenmiştir ($p<0.05$). PÜO ve KÜO grupları arasında ipsilateral ve kontralateral böbrek medullarındaki GRP78 ekspresyonu açısından anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0.05$). Medullada GRP78 proteini Henle'nin kalın kulpllarında yoğun olarak lokalize olmuştur (Şekil 4.5).



Şekil 4.4. Böbrek kortekslerinde görülen GRP78 protein ekspresyonu. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak ifade edilmiştir. (* $p<0.0332$; *** $p<0.0002$; **** $p<0.0001$)

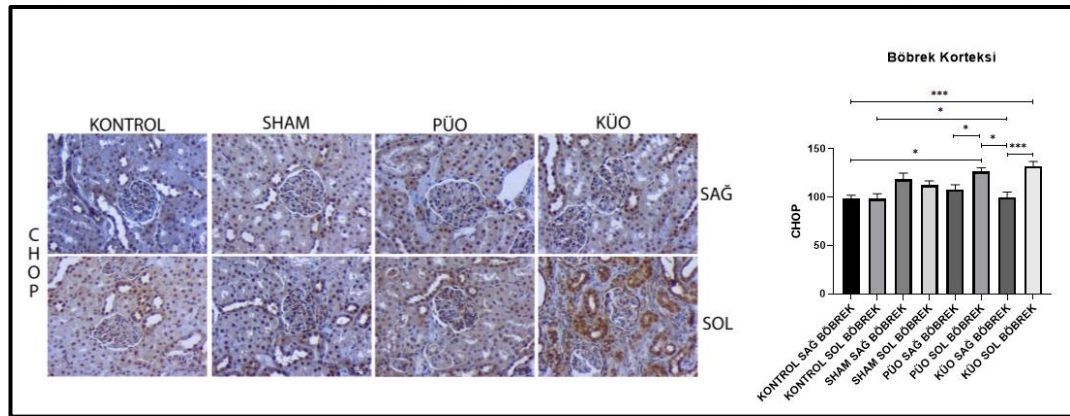


Şekil 4.5. Böbrek medullalarında görülen GRP78 protein ekspresyonu. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak ifade edilmiştir. (* $p<0.0332$; ** $p<0.0021$)

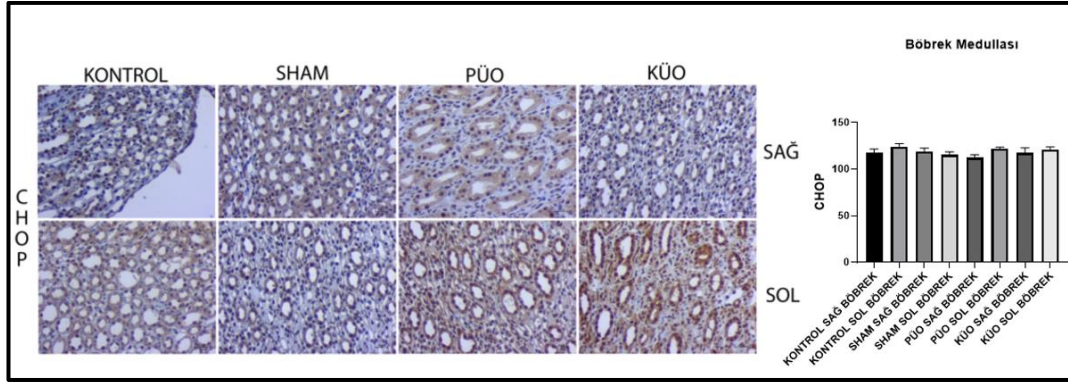
4.3.2. CHOP Ekspresyonu

K ve S gruplarındaki ipsilateral ve kontralateral böbrek kortekslerinde birbirlerine kıyasla anlamlı ekspresyon artışı gözlenmemiştir ($p>0.05$). PÜO uygulanan sıçanların ipsilateral böbrek kortekslerinde K ve S gruplarının ipsilateral böbreklerine kıyasla anlamlı ekspresyon artışı gözlenmiştir ($p<0.05$). PÜO uygulanan sıçanların ipsilateral böbrek kortekslerinde kontralateral böbreklere kıyasla anlamlı ekspresyon artışı gözlenmiştir ($p<0.05$). KÜO uygulanan sıçanların ipsilateral böbrek kortekslerinde K ve S gruplarının ipsilateral böbreklerine kıyasla anlamlı ekspresyon artışı gözlenmiştir ($p<0.0002$). KÜO uygulanan sıçanların ipsilateral böbrek kortekslerinde kontralateral böbreklere kıyasla anlamlı ekspresyon artışı gözlenmiştir ($p<0.0002$). PÜO ve KÜO grupları arasında ipsilateral ve kontralateral böbrek kortekslerindeki CHOP ekspresyonu açısından anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0.05$). CHOP protein lokalizasyonu kortekste yoğunlukla nükleer olup tübüllerde fazladır (Şekil 4.6).

Tüm gruplarda ipsilateral ve kontralateral böbrek medullalarında anlamlı ekspresyon farkı görülmemiştir. Medullada CHOP proteini Henle'nin kalın kulpllarında yoğun olarak lokalize olmuştur (Şekil 4.7).



Şekil 4.6. Böbrek kortekslerinde görülen CHOP protein ekspresyonu. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak ifade edilmiştir. (* $p<0.0332$; *** $p<0.0002$)



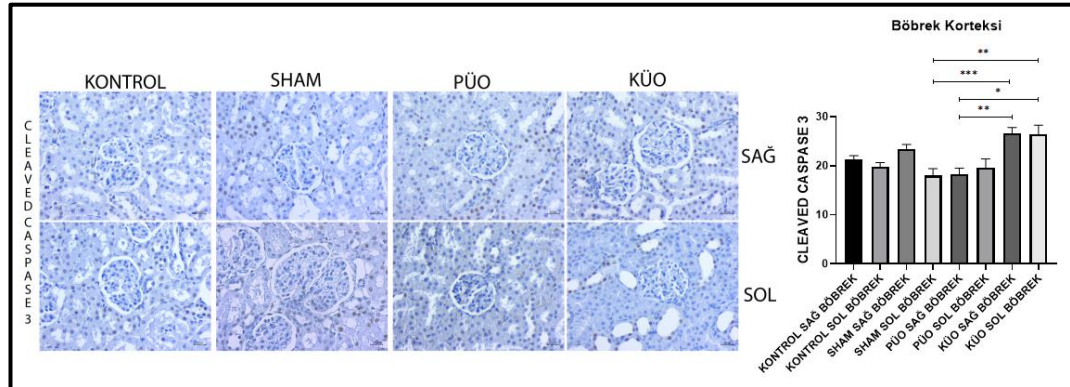
Şekil 4.7. Böbrek medullalarında görülen CHOP protein ekspresyonu. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak ifade edilmiştir.

4.3.3. Cleaved Caspase-3 Ekspresyonu

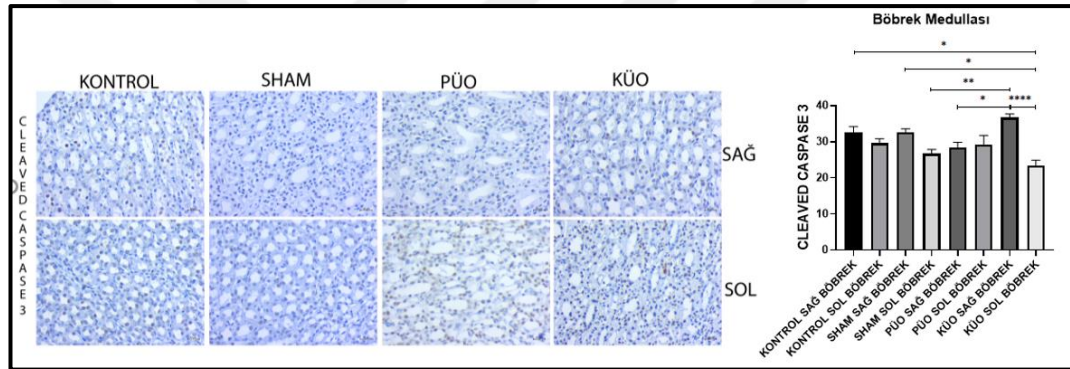
K ve S gruplarındaki böbreklerin kortekslerinde anlamlı ekspresyon artışı gözlenmemiştir ($p>0.05$). PÜO uygulanan sıçanların böbrek kortekslerinde anlamlı ekspresyon artışı gözlenmemiştir ($p>0.05$). KÜO uygulanan sıçanların hem ipsilateral hem de kontralateral böbrek kortekslerinde K ve S gruplarının ipsilateral böbreklerine kıyasla anlamlı ekspresyon artışı gözlenmiştir ($p<0.005$). PÜO ve KÜO grupları arasında ipsilateral ve kontralateral böbrek kortekslerindeki *cleaved caspase-3* ekspresyonu açısından anlamlı fark gözlenmiştir ($p<0.002$). Kortekste *cleaved caspase-3* ekspresyonu daha çok distal tübüllerde ve toplayıcı tübüllerde görülmüştür (Şekil 4.8).

K ve S gruplarındaki böbreklerin medullalarında anlamlı ekspresyon artışı gözlenmemiştir ($p>0.05$). PÜO uygulanan sıçanların böbrek medullalarında anlamlı ekspresyon artışı gözlenmemiştir ($p>0.05$). KÜO uygulanan sıçanların ipsilateral böbrek medullalarında K ve S gruplarının böbreklerine kıyasla anlamlı ekspresyon artışı gözlenmemiştir ($p>0.05$). KÜO uygulanan sıçanların kontralateral böbrek medullalarında K ve S gruplarının böbreklerine kıyasla anlamlı ekspresyon artışı gözlenmiştir ($p<0.002$). KÜO uygulanan sıçanların kontralateral böbrek medullalarında PÜO grubunun böbreklerine kıyasla anlamlı ekspresyon artışı gözlenmiştir ($p<0.05$). KÜO uygulanan sıçanların kontralateral böbrek medullalarında ipsilateral böbreklere kıyasla anlamlı ekspresyon artışı gözlenmiştir ($p<0.0001$). PÜO ve KÜO grupları arasında ipsilateral ve kontralateral böbrek medullalarındaki *cleaved caspase-3* ekspresyonu açısından anlamlı fark

gözlenmemiştir ($p>0.05$). Medullada *cleaved caspase-3* ekspresyonu daha çok Henle'nin kalın kulpunda görülmüştür (Şekil 4.9).



Şekil 4.8. Böbrek kortekslerinde görülen *cleaved caspase-3* protein ekspresyonu. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak ifade edilmiştir. (* $p<0.0332$; ** $p<0.0021$; *** $p<0.0002$)



Şekil 4.9. Böbrek medullalarında görülen *cleaved caspase-3* protein ekspresyonu. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak ifade edilmiştir. (* $p<0.0332$; ** $p<0.0021$; **** $p<0.0001$)

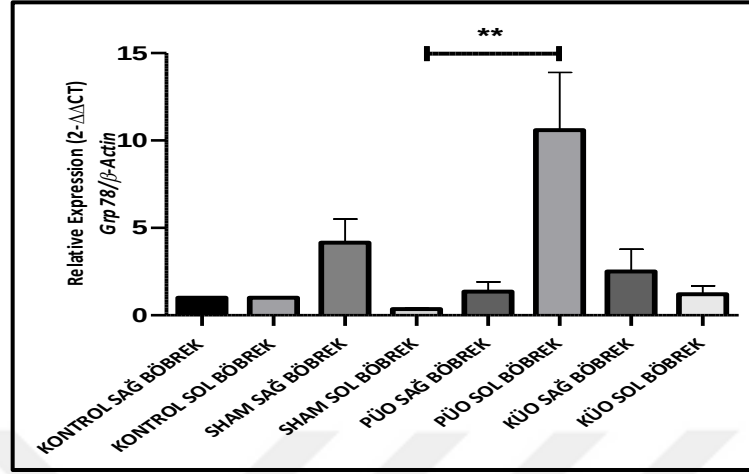
4.4. Kantitatif Real-Time PCR (RT-PCR) Değerlendirmesi

Tüm grupların ipsilateral ve kontralateral böbrek dokularında GRP78 ve CHOP'un göreceli mRNA ekspresyonu, hedef mRNA ekspresyonun β -actin mRNA'ya oranı belirlenerek değerlendirildi.

4.4.1. GRP78 mRNA Ekspresyonu

K, S ve KÜO gruplarındaki ipsilateral ve kontralateral böbreklerde anlamlı ekspresyon artışı gözlenmemiştir ($p>0.05$). PÜO uygulanan sıçanların ipsilateral böbreklerinde diğer tüm gruplardaki ipsilateral ve kontralateral böbreklere kıyasla anlamlı ekspresyon artışı gözlenmiştir ($p<0.003$). PÜO uygulanan sıçanların

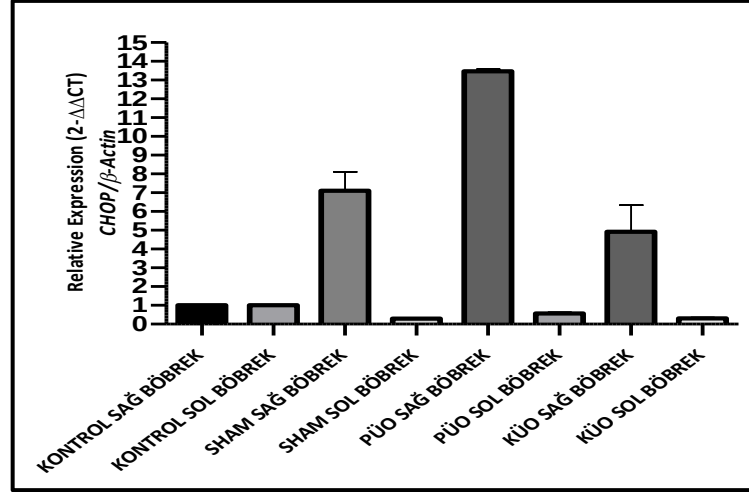
kontralateral böbreklerinde anlamlı ekspresyon artışı gözlenmemiştir ($p>0.05$) (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Sıçan böbreklerinde GRP78/β-Actin mRNA ekspresyonu. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak ifade edilmiştir. ($p=0.0021$).

4.4.2. CHOP mRNA Ekspresyonu

K ve S gruplarındaki ipsilateral ve kontralateral böbrekler arasında anlamlı CHOP mRNA ekspresyon artışı gözlenmemiştir ($p>0.05$). PÜO uygulanan sıçanların ipsilateral böbreklerinde K ve S gruplarına kıyasla anlamlı ekspresyon artışı gözlenmemiştir ($p>0.05$). PÜO uygulanan sıçanların kontralateral böbreklerinde K ve S gruplarına kıyasla ekspresyonda belirgin artış izlendi ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). KÜO uygulanan sıçanların ipsilateral böbreklerinde K ve S gruplarına kıyasla anlamlı ekspresyon artışı gözlenmemiştir ($p>0.05$). KÜO uygulanan sıçanların kontralateral böbreklerinde K ve S gruplarına kıyasla ekspresyonda artış izlendi ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). PÜO ve KÜO grupları arasında ipsilateral ve kontralateral böbreklerde CHOP mRNA ekspresyonu açısından anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0.05$) (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Sıçan böbreklerinde CHOP/β-Actin mRNA ekspresyonu. Veriler ortalama ± SEM olarak ifade edilmiştir.

5. TARTIŞMA

Günümüzde hidronefroz, USG'nin yaygın kullanıma girmesiyle birlikte prenatal dönemde saptanabildiği gibi deneyime bağlı olarak etiyolojisi de aydınlatılabilmekte ve obstrüktif patolojik durumlar belirlenebilmektedir. Yenidoğan dönemindeki obstrüktif hidronefrozun en sık nedeni ÜPBO olup ikinci sırada ÜVBO gelmektedir (131). Birçok etyoloji nedeniyle ÜPB'de meydana gelen drenaj sorunu fetal dönemden itibaren böbrekte parankimal hasara yol açmaya başlamaktadır. Erişkin hidronefrozlarının aksine, yenidoğan ÜPBO'unda hidronefrozun herhangi bir tedavi gerekmeden kendiliğinden düzelme potansiyeli yüksektir. Ancak prenatal hidronefroz tanısı konulmuş infantlarda, postnatal çalışmalarla hidronefrozun şiddetinin ve olası nedenlerinin ortaya konularak hangi bebeklerin güvenle izlenebileceğine karar verilmeli ve ciddi bir obstrüksiyon tespit edildiğinde de böbrek hasarının önlenmesi için cerrahi tedavi uygulanmalıdır. Ürolojik ve nefrolojik yaklaşımda böbrek zedelenmesinin önlenmesi ve özellikle obstrüktif üropati sonucu ortaya çıkabilecek morbidite ve mortalitenin azaltılması klinik açıdan önemlidir. Bu açıdan öncelikle hasara yol açan etmenlerin belirlenmesi ve sonrasında bunların giderilmesine yönelik araştırmaların yapılması önem kazanmıştır.

Üreteral obstrüksiyona bağlı böbrek zedelenmesinin etyopatogenezi henüz tam aydınlatılamamış olup bu konudaki deneysel çalışmalarda genellikle PÜO veya KÜO hayvan modelleri kullanılmaktadır. PÜO için üreterin psoas kası içerisine gömülmesi veya kontrollü ligasyonu en sık uygulanan yöntemlerdir (132). Bu yöntemler karşılaşılan klinik tablolar ile daha uyumlu modeller olarak dikkat çekmektedir. KÜO için ise üreterin doğrudan bağlanması uygulanmaktadır (133). Yapılan çeşitli çalışmalarla üreteral obstrüksiyona bağlı olarak etkilenen böbrekte ortaya çıkan değişiklikler çok yönlü olarak araştırılmıştır.

Yuan ve ark. (133) tarafından yapılan deneysel çalışmada, KÜO oluşturulduktan sonra idrar ve serum biyokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada idrar protein/kreatinin oranının arttığı, serum kreatinin ve üre nitrojen değerinin arttığı ve idrarda alpha-actinin-1, annexin A1, moesin ve vimentin gibi proteinlerin atılımının arttığı gösterilmiştir. *Togao ve ark.* (134) tarafından farelerde yapılan

deneysel çalışmada, KÜO oluşturulduktan sonra histokimyasal ve radyolojik değerlendirme yapılmış. Üriner obstrüksiyon sonrası histopatolojik olarak böbrekte fibrozis geliştiği ve MRG'de kapiller perfüzyonu kantitatif olarak gösteren görünür difüzyon katsayısında meydana gelen belirgin düşüşün oluşan fibrozis ile korelasyon gösterdiği ortaya konulmuştur. Böylece MRG'de obstrüksiyon oluşan böbrekte belirgin fibrozis geliştiği gösterilmiştir. *Li ve ark. (135)* tarafından sıçanlarda yapılan deneysel çalışmada, KÜO oluşturulmuş ve histopatolojik değerlendirmede böbrek parankiminde tübüler dilatasyon ve atrofi, interstisyel inflamasyon ve interstisyel fibrozis geliştiği gösterilmiştir. *Zhao ve ark. (136)* tarafından sıçanlarda yapılan deneysel çalışmada, KÜO oluşturulmuş ve apoptozis, mitokondri hasarı ve oksidatif stres ile ilişkili birçok proteinde artış gösterilmiştir. *Karabuğa ve ark. (137)* tarafından sıçanlarda yapılan deneysel çalışmada, KÜO oluşturulmuş, ultrastrüktürel değerlendirmede glomerüllerde ödem ve skleroz, tübül hücrelerinde mikrovillus kaybı ve apoptotik hücre artışı saptanmıştır.

ERS, farklı doku ve hücrelerdeki zedelenmelerin etyopatogenezini aydınlatmak için son yıllarda üzerinde durulan bir konudur. Özellikle protein sentezi ve katlanmasını etkileyen değişik fizyolojik/patolojik koşullarda önem kazanmaktadır. Bu koşullar ER'da katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinlerin birikimine yol açarak hücrede ERS oluşturur (138). ERS, UPR'yi aktive eder. UPR yanıtı ile ER membranında ERS'in üç sensörünün aktivasyonu gerçekleşir. Bu sensörler; PERK, IRE1 α ve ATF6 α 'dır. Hücre stres altında olmadığı zaman ER şaperon bağlayıcı immünoglobulin proteini BiP/GRP78 sensörlere bağlı durumdadır ve onları inaktif durumda tutar (139). ER kapasitesini aşacak miktarda katlanmamış ya da yanlış katlanmış protein lümene biriktiği zaman GRP78, stres sensörlerinden ayrılarak lümeneye geçer ve böylece PERK, IRE1 α ve ATF6 α aktif hale gelir. Aktivasyon sonucunda aminoasit metabolizması, membran biyogenezi, lipid biyosentezi, oksidatif stres cevabıyla ilgili genlerin transkripsiyonu arttırılır. UPR sonucunda; genel protein sentezi azaltılarak ER'deki protein katlanma yükü azaltılır ya da GRP78 şaperonu arttırılarak ER protein katlanma kapasitesi arttırılır. ERS ile başa çıkılamaması durumunda ise çevre hücrelere zarar gelmesini önlemek amacıyla hücre apoptozise yönlendirilebilir. GRP78 ekspresyonunun artışı ERS'nin artışını gösteren temel belirteç iken stres ile baş edilememesiyle hücre apoptozise

yönlendirilir ve bu durumda CHOP ekspresyonunda artış izlenir (140). CHOP ekspresyonunda artışla birlikte apoptoziste ana düzenleyici rol oynayan kaspaslar aktive olur. Kaspaslar, hücre ölüm modu olan apoptozisin indüklenmesi ile ilişkilendirilmiştir (141).

Literatürde nörodejeneratif bozukluklar, diabetes mellitus, iskemi/reperfüzyon, kanserler, ateroskleroz, enflamasyon, KÜO, enfeksiyon ve kimyasal/metal toksisite gibi patolojik durumların olduğu organ ve dokularda ERS'nin gerçekleştiği bildirilmiştir (142-147).

Myoishi ve ark. (148) tarafından yapılan çalışmada koroner arter hastalığında akut koroner olayların patogenezinde ERS'nin rolünün olduğu gösterilmiştir. *Nakka ve ark.* (149) tarafından sıçanlarda yapılan deneysel çalışmada beyin dokusunda oluşan iskemi/reperfüzyon hasarında ERS'nin kritik rol oynadığı gösterilmiştir. *Chiang ve ark.* (150) tarafından sıçanlarda yapılan deneysel çalışmada KÜO sonrası böbreklerde gelişen tübüler hücre kaybı ve renal fibroziste ERS'nin kritik rol oynadığı gösterilmiştir.

Literatür incelendiğinde üriner obstrüksiyon konusunda çok sayıda deneysel çalışma yapılmış olmasına karşın klinik uygulamada daha sık görülen PÜO'nun renal ERS üzerine olan etkisi henüz tam bilinmemektedir. Ayrıca, aynı deneysel modelde PÜO ve KÜO'un ERS üzerine etkilerinin kıyaslandığı bir araştırma da yoktur. Bu etkileri araştırmak üzere, çalışmamızda tek taraflı PÜO ve KÜO oluşturulan Wistar albino sıçanların böbreklerinde hem ERS'nin var olup olmadığının hem de bunun renal parankimal apoptozis ile ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışmanın sonunda tüm hayvanların deney öncesi ve sonrası vücut ağırlıkları değerlendirildiğinde sıçanlar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Bu sonuç, tek taraflı PÜO veya KÜO'a bağlı hidronefroza büyümenin etkilenmediğini düşündürmekte olup kontralateral böbreğin kompensasyon mekanizmaları ile açıklanabilir.

K ve S gruplarında böbreklerin boyut ve dış görünüşlerinde beklendiği üzere bir farklılık gözlenmezken, PÜO grubunda hacim ve ağırlık açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunmamışsa da obstrüksiyonun proksimalinde üreter ve pelviste makroskopik dilatasyonla birlikte böbrekte göreceli bir büyüme olması deney

modelinin başarılı olduğunu desteklemiştir. KÜO grubunda ipsilateral böbrekte ileri düzeyde kistik genişleme ve parankimde ciddi incelmeye olduğu görülmüştür. Bu grupta diğer bütün gruplara göre ipsilateral böbreklerde hacim ve ağırlık artışı anlamlı derecede şiddetli olmuştur ve ayrıca kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kontralateral böbrekte de anlamlı düzeyde ağırlık artışı olduğu görülmüştür. Bu bulgunun KÜO grubunda kontralateral böbreklerin adaptasyon süreci ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Histopatolojik kesitler alınmadan önce yapılan incelemelerde PÜO grubunda atrofi daha çok böbrek medullasında gözlenirken, KÜO grubunda hem medulla hem de korteks alanlarında ileri derecede atrofi görülmesi KÜO deney modelinin konjenital ÜPBO araştırmalarında ideal bir yöntem olmadığını, PÜO modellerinin klinik tablolara daha uygun olduğunu düşündürmektedir. *Klein ve ark.* (151) tarafından ÜPBO ile ilgili hayvan modelleri ve invitro çalışmaların incelendiği derlemede, konjenital ÜPBO'nun kompleten ziyade daha çok parsiyel nedenlere bağlı olduğu ve bu nedenle PÜO modellerinin daha çok tercih edildiği belirtilmiştir.

Çalışma sonunda H&E boyama ile yapılan histopatolojik değerlendirmede K ve S gruplarında herhangi bir yapısal değişiklik gözlenmezken hem PÜO hem de KÜO gruplarında glomerüllerde büzüşme, Bowman aralığında genişleme, tübüllerde dejenerasyon, medullada hücresel debris ve vakuolizasyon geliştiği ancak PÜO'da görülen değişikliklerin daha hafif düzeyde kaldığı gözlenmiştir. Bu bulgular PÜO'da da anlamlı derecede parankimal etkilenme olduğu ancak sürecin daha yavaş seyrettiğini göstermektedir. Glomerüllerde görülen büzüşme ve Bowman aralığında meydana gelen genişleme, obstrüksiyon sonucunda toplayıcı sistemlerde ileri derecede hidrodistanسیون geliştiğini göstermektedir. Medullada görülen debris alanlarına ve glomerüllerde görülen hücre kaybına bakıldığında hidrodistanسیونun mikrosirkülasyon bozukluğuna neden olarak apoptozisi tetiklediğini düşündürmüştür. Literatür incelendiğinde tek taraflı PÜO ile ilgili çok sayıda deneysel araştırma yapılmış olup histopatolojik değişiklikler çok yönlü olarak tanımlanmıştır (152,153). Çalışmamızdaki bulgularla literatür bilgileri arasında paralellik gözlenmiştir.

Çalışmamızda ERS açısından immunohistokimyasal olarak incelenen proteinlerin ilki GRP78'dir. GRP78 proteini, diğer adıyla BiP, HSP70 ailesinin bir üyesi olup

ER’da gerekleŖen UPR cevabında nc rol oynamaktadır. UPR ile baŖa çıkılamaması sonucu en önemli ERS belirteçlerinden olan GRP78 ekspresyonunda artıŖ olmaktadır (153). *Zhang ve ark.* (154) tarafından sıçanlarda yapılan deneysel alıŖmada, tek taraflı KO oluŖturulduktan sonra GRP78 ekspresyonunun arttığı bunun "laminarin" etken maddesiyle daha yüksek düzeylere çıktığı gsterilmiŖtir. alıŖmamıza bakıldığında KO ve PO gruplarındaki sıçanların ipsilateral böbreklerinde hem medullada hem de kortekste K ve S gruplarına ve kontralateral böbreklere kıyasla anlamlı bir ekspresyon artıŖı gzlenmiŖtir. PO uygulanan sıçanların ipsilateral böbrek kortekslerinde K ve S gruplarının ipsilateral böbreklerine kıyasla anlamlı ekspresyon artıŖı gzlenmiŖtir. PO grubuyla karŖılaŖtırıldıėında KO grubunda korteksteeki ekspresyon artıŖı daha ciddi düzeydedir. PO grubunda kortekste daha dŖk ekspresyon artıŖı olması KO’a göre korteksin nispeten korunduğunu dŖndrmektedir. İmmunohistokimyasal analizlerde PO ve KO gruplarında izlenen GRP78 protein ekspresyonundaki bu artıŖ protein katlanmasındaki sorunlara ve dolayısı ile ERS’nin aktifleŖtiėine iŖaret etmektedir.

alıŖmamızda ERS açısından immunohistokimyasal olarak incelenen proteinlerin ikincisi CHOP’tur. CHOP proteini, diğer adıyla GADD153, ERS sırasında birden fazla seviyede aktive olan ve apoptoziste belirleyici rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür. KatlanmamıŖ ve yanlıŖ katlanmış proteinler hücrede ERS’ne neden olarak CHOP ekspresyonunu tetikler (155). alıŖmamıza bakıldığında PO ve KO gruplarındaki sıçanların ipsilateral böbrek kortekslerinde kontralateral böbreklere kıyasla anlamlı bir CHOP ekspresyon artıŖı gzlenmiŖtir. Bu artıŖ ERS’ne bağlı olarak ekspresyon görülen bu alanlarda CHOP üzerinden apoptotik yolağa girildiğini dŖndrmektedir. Böbreklerin medullası incelendiğinde tüm gruplar arasında herhangi bir ekspresyon farklılığı saptanmamıŖtır. Bu bulguya bakıldığında PO grubunda ipsilateral böbreklerin medullasında atrofi görülmesine rağmen CHOP ekspresyonunda artıŖın olmaması apoptozisin farklı mekanizmalar üzerinden gerekleŖmiŖ olabileceğini dŖndrmektedir. Ayrıca PO grubunda ipsilateral böbreklerin korteksinde CHOP ekspresyonunda artıŖ görülmesine rağmen atrofi geliŖmemesi PO’da antiapoptotik süreçlerin de devreye girmesiyle korteksin nispeten korunduğunu dŖndrmektedir. *Yang ve*

ark. (156) tarafından sıçanlarda yapılan deneysel çalışmada, tek taraflı KÜO oluşturulduktan sonra "fluorofenidone" etken maddesi araştırılmış ve bu maddenin CHOP ekspresyonunu engelleyerek apoptozisi önlediği gösterilmiştir. Bu çalışmada böbrek parankiminin hangi komponentinin etkilendiği belirtilmemiştir. Literatür incelendiğinde konu ile ilgili çalışmalarda elde edilen bulguların böbrek parankiminin hangi komponentinden kaynaklandığı net değildir. Çalışmamızda, böbreğin korteks ve medullasındaki immunohistokimyasal bulguların ayrı ayrı elde edilmesi bu konudaki özgünlük açısından önemlidir.

Çalışmamızda ERS açısından immunohistokimyasal olarak incelenen proteinlerin üçüncüsü *cleaved caspas-3*'tür. Programlı hücre ölümü olarak nitelendirilen apoptozis, kaspaslar tarafından domine edilmektedir. Kaspas-3, -6 ve -7 cellat olarak bilinir ve diğer kaspaslar tarafından aktive edildiği zaman son aşamada apoptozisi geridönüşümsüz olarak uyarırlar. *Cleaved caspas-3* aktif form olup birçok dokuda hücrel stres durumunda ekspresyonu artmaktadır (157). Çalışmamızda PÜO grubundaki böbreklerde anlamlı bir ekspresyon görülmezken KÜO grubundaki sıçanların hem ipsilateral hem de kontralateral böbrek kortekslerinde ekspresyonda artış görülmüştür. Ayrıca KÜO grubunda ipsilateral böbreklerin medullasında da anlamlı ekspresyon artışı görülmüştür. Bu bulgular KÜO deney modelinde oluşan şiddetli hidronefrozun ipsilateral böbrekte apoptozisi indükleyerek ciddi parankim hasarına neden olduğu gibi kontralateral böbreği de etkilediğini düşündürmektedir. PÜO grubunda *cleaved caspas-3* ekspresyonunda artış görülmemesi PÜO'un böbreklerde ERS'ni tetiklediği ancak ERS'den bağımsız apoptozis yollarının aktive edilmiş olabileceğini düşündürmüştür. Ayrıca PÜO grubundaki böbreklerde meydana gelen ERS'ne yanıt olarak UPR'nin aktive edildiği ve bu aktivasyon sonucunda GRP78 şaperonunun eksprese edilerek protein katlanma kapasitesinin artırıldığı, böylece hücrenin kaspas aracılı apoptozisten korunduğu düşünülmüştür. Zhang ve ark. (158) tarafından sıçanlarda yapılan deneysel çalışmada, tek taraflı KÜO oluşturulduktan sonra renal parankimde kaspas-3 ekspresyonunun anlamlı derecede arttığı ve "stachydrin" etken maddesinin bu ekspresyonu azaltarak fibrozisi engellediği gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda KÜO grubunda ipsilateral böbrekte benzer bulgular ortaya konulmuştur. Ancak bu çalışmadan farklı olarak klinik tablolara daha uygun olan

PÜO deney modelinde ERS'nin nasıl gerçekleştiği aynı anda değerlendirilmiş olup KÜO ile karşılaştırma yapılabilmektedir.

Çalışmamızda GRP78 ve CHOP proteinlerinin mRNA düzeyinde ekspresyonları da değerlendirilmiştir. PÜO grubunda ipsilateral böbreklerde S grubuna kıyasla GRP78 mRNA düzeyinde anlamlı artış olduğu ancak KÜO grubunda böyle bir artışın gerçekleşmediği görülmüştür. Bu sonuç parsiyel obstrüksiyon durumunda protein katlanmasında kapasitenin aşıldığını ve böylelikle stres altında olan hücrenin GRP78 mRNA'sını arttırarak katlanmamış ya da yanlış katlanmış protein yükünü azaltmaya yönelik etki gösterdiğini düşündürmektedir. KÜO grubunda GRP78 mRNA ekspresyonunda artış olmaması, KÜO'da başta hasarın engellenmeye çalışıldığını ancak hızla gelişen ciddi hidronefrozun ve apoptozis nedeniyle hücrenin buna yeterince zaman bulamadığını düşündürmüştür.

PÜO ve KÜO gruplarında ipsilateral böbreklerde CHOP mRNA ekspresyonunda artış gözlenmezken kontralateral böbreklerde ise istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte sayısal açıdan belirgin bir artış gözlendi. CHOP mRNA ekspresyonundaki artış kontralateral böbreklere sıvı yükün binmesi sonucunda ERS'ne bağlı apoptotik yolun tetiklendiğini düşündürmüştür. Ancak PÜO grubunda CHOP mRNA ekspresyonunda artış gerçekleşmesine rağmen cleaved caspas-3 artışı görülmemesi parsiyel obstrüksiyon durumunda böbreklerin ERS hasarından nispeten korunabildiğini düşündürmüştür.

Çalışmamızın bulgularına bakıldığında, tek taraflı PÜO ve KÜO'a bağlı böbreklerde hidronefroz olduğu ve bunun da renal parankimal hasara yol açtığı gösterilmiştir. KÜO'da PÜO'a göre çok daha şiddetli hidronefroz olduğu ve meydana gelen hücresel hasarın geridönüşümsüz olduğu görülmüştür. KÜO ve PÜO modelleri karşılaştırıldığında PÜO'da da ERS olduğu ancak hücrenin stres ile baş edebilme kapasitesini koruyabildiği görülmüştür. Klinik uygulamaya bakıldığında postnatal dönemde tanı konulan PÜO'un tedaviden ciddi yarar görmesi, bu konuyla ilgili yapılacak deneysel çalışmalarda PÜO'a odaklanılmasının daha yararlı olacağını düşündürmektedir.

Çalışmamızda hem PÜO hem de KÜO'u içeren bir deney modelinde algoritmik ve çok yönlü değerlendirme yapılmış olmasına karşın bazı kısıtlayıcı faktörler de söz konusudur. Bunlardan biri histopatolojik değişikliklerin yalnızca vizüel olarak

değerlendirilmesidir. Bir diğeri, immunohistokimyasal değerlendirmede korteks ve medulla ayrı ayrı değerlendirilmesine rağmen bu iki alanı birbiriyle kıyaslayan istatistiksel karşılaştırmanın yapılamamış olmasıdır. Sonuncusu da RT-PCR değerlendirmesinde korteks ve medullanın ayrı ayrı irdelenmemesidir.

Sonuç olarak yaptığımız deneysel çalışmada ister parsiyel ister komplet olsun üreteral obstrüksiyon sonrası böbreklerde ERS gelişebileceği ve bunun renal parankimal zedelenme ile doğrudan ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Bu zedelenme histopatolojik, immunohistokimyasal ve moleküler biyolojik olarak gösterilmekle beraber, etkilenen mekanizmalar oldukça kompleks bir yapıya sahiptir ve zedelenmeyi tümüyle açıklamak için yeterli değildir. Yapılacak daha ileri çalışmalarla ÜPBO modellerinde renal parankimde gerçekleşen ERS üzerinde etkili olabilecek ve klinik uygulamada kullanılabilecek moleküllerin araştırılmasına gereksinim vardır.

6. SONUÇLAR

Deneysel tek taraflı PÜO ve KÜO oluşturulan sıçanlarda ipsilateral ve kontralateral böbreklerde endoplazmik retikulum stresinin araştırıldığı çalışmamızda elde edilen bulgular literatürdeki mevcut bilgilerle kıyaslandığında aşağıdaki sonuçlara varılmıştır.

1. Makrospopik/morfolojik değerlendirmede PÜO grubunda obstrüksiyonun proksimalinde üreter ve pelviste dilatasyon olmasına karşın böbrek fiziksel özelliklerini korumuştur. KÜO grubunda ise parankimde ileri derecede destrüksiyona neden olan ve böbrek konturlarını bozan hidronefroz tespit edilmiştir. Bu bulgular deneysel modelimizin başarılı olduğunu desteklemiştir.
2. Bu çalışmada tüm gruplardaki sıçanların deney öncesi ve sonrası vücut ağırlıklarına bakıldığında gruplar arasında büyüme açısından anlamlı bir fark görülmemiştir. Bu sonuç tek taraflı hidronefrozun derecesi ne olursa olsun sıçanların büyümesi üzerine anlamlı bir etkide bulunmadığını düşündürmüştür.
3. İmmunohistokimyasal değerlendirmede, PÜO ve KÜO gruplarında ipsilateral böbreğin GRP78 ekspresyonu hem K ve S gruplarına göre hem de kontralateral böbreklerin korteks ve medullasına kıyasla artmıştır. PÜO grubuyla karşılaştırıldığında, KÜO grubunda kortekste GRP78 ekspresyon artışı daha anlamlı düzeydedir. PÜO grubunda kortekste daha düşük ekspresyon artışı ER protein katlanma kapasitesinin arttırılmasında önemli rol oynayan GRP78 aracılığıyla korteksin göreceli olarak ERS'nden korunabildiğini düşündürmektedir.
4. İmmunohistokimyasal değerlendirmede, PÜO ve KÜO gruplarının ipsilateral böbrek kortekslerinde hem K ve S gruplarına göre hem de kontralateral böbreklere kıyasla anlamlı bir CHOP ekspresyon artışı gözlenirken medullada tüm gruplar arasında anlamlı bir ekspresyon farklılığı gözlenmemiştir. Bu bulgu, hem PÜO hem de KÜO'da CHOP ilişkili apoptotik yolağın böbrek korteksinde daha etkin olduğunu desteklemektedir.
5. İmmunohistokimyasal değerlendirmede PÜO grubunun ipsilateral ve kontralateral böbrek kortekslerindeki *cleaved caspas-3* ekspresyonu K ve S gruplarına göre anlamlı bir değişiklik göstermezken KÜO grubunun kontralateral böbreklerinde S grubuna göre anlamlı artış saptanmıştır. Medüller *cleaved caspas-*

3 ekspresyonu göz önüne alındığında ise PÜO grubunda K ve S gruplarına göre anlamlı bir ekspresyon artışı görülmezken, KÜO grubunda ipsilateral böbrek medullasında anlamlı bir azalma görülmüştür. Ayrıca KÜO grubunda ipsilateral böbreklerin medullasında kontralateral böbreğe göre *cleaved caspas-3* ekspresyonu anlamlı olarak azalmıştır. Bu bulgular KÜO modelinde *cleaved caspas-3* ilişkili ERS'nin ipsilateral böbrekte kortikal apoptozisi indüklenmesi ile parankimal bir zedelenmenin olduğunu desteklemektedir.

6. RT-PCR değerlendirmesinde, GRP78 mRNA ekspresyonuna bakıldığında K, S ve KÜO gruplarındaki ipsilateral ve kontralateral böbreklerde anlamlı ekspresyon artışı gözlenmemiştir. PÜO grubu sıçanların ipsilateral böbreklerinde hem kontralateral hem de diğer tüm gruplardaki böbreklere kıyasla anlamlı ekspresyon artışı gözlenmiştir. Bu sonuç, PÜO'da GRP78 mRNA ilişkili ERS'nin transkripsiyonel olarak da gerçekleştiğini düşündürürken, KÜO'da bu mekanizmanın işlemediğini göstermektedir.

7. RT-PCR değerlendirmesinde CHOP mRNA ekspresyonuna bakıldığında K ve S gruplarındaki ipsilateral ve kontralateral böbreklerde anlamlı ekspresyon artışı gözlenmemiştir. PÜO ve KÜO gruplarında kontralateral böbreklerde hem K ve S ve hem de ipsilateral böbreklere kıyasla istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte sayısal açıdan belirgin bir artış gözlenmiştir. Bu bulgu CHOP mRNA ilişkili ERS için transkripsiyonel açıdan apoptotik yanıtın tartışmalı olabileceğini düşündürmüştür.

8. Tüm bulgular birlikte değerlendirildiğinde, tek taraflı PÜO ve KÜO deney modellerinde hem ipsilateral hem de kontralateral böbreklerde korteks ve medullayı etkileyen değişik derecelerde ERS geliştiği görülmüştür. Hücre, bu ERS'ne gerek şaperonlar gerekse apoptotik yollardan hem immünohistokimyasal hem de RT-PCR ile transkripsiyonel olarak saptanabilen oldukça kompleks yanıtlar vermektedir.

9. Bu bulguların klinik uygulamalarda kullanabilecek aşamaya gelebilmesi için yapılacak daha ileri çalışmalarla ÜPBO modellerinde renal parankimde gerçekleşen ERS'nde etkili olan diğer mekanizmaların da araştırılmasına ve bu mekanizmaları düzenleyebilecek moleküllerin araştırılmasına gereksinim vardır.

7. ÖZET

Tek Taraflı Parsiyel ve Komplet Üreteral Obstrüksiyon Oluşturulan Sıçanlarda İpsilateral ve Kontralateral Böbreklerde Endoplazmik Retikulum Stresinin Araştırılması

Amaç: Üreteral obstrüksiyon konusunda çok sayıda çalışma yapılmış olmasına karşın klinik uygulamada daha sık görülen PÜO'nun ERS üzerine olan etkisi bilinmemektedir. Ayrıca, aynı deneysel modelde KÜO ve PÜO'nun ERS üzerine etkilerinin kıyaslandığı bir araştırma da yoktur. Bu etkileri araştırmak üzere, çalışmamızda tek taraflı PÜO ve KÜO oluşturulan sıçanların ipsilateral ve kontralateral böbreklerinde ERS ile ilişkili zedelenmenin var olup olmadığının immunohistokimyasal ve moleküler biyolojik yöntemler kullanılarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada 21 günlük toplam 24 Wistar sıçan herbiri 6 sıçan içeren 4 gruba ayrıldı: Kontrol (K) grubu, sham (S) grubu, parsiyel üreteral obstrüksiyon (PÜO) grubu, komplet üreteral obstrüksiyon (KÜO) grubu. K grubu: Herhangi bir cerrahi işlem uygulanmadı. S grubu: Laparotomi sonrası proksimal üreter psoas kasından yalnızca diseke edilip herhangi bir obstrüksiyon işlemi uygulanmadı. PÜO grubu: Laparotomi yapılarak proksimal üreter diseke edilip serbestleştirildi ve psoas kasına iki noktadan gömüldü. KÜO grubu: Laparotomi yapılarak proksimal üreter diseke edilip serbestleştirildi ve tam obstrüksiyon oluşturacak şekilde iki noktadan bağlandı. İki haftalık deney süresinin sonunda tüm gruplara ait denekler sakrifiye edilip ipsilateral ve kontralateral böbrekler çıkartıldı. Böbreklerin makroskopik/morfolojik ölçümleri yapıldıktan sonra her bir böbrek dokusu iki parçaya bölünüp biri histopatolojik diğeri moleküler biyolojik incelemeler için uygun koşullarda laboratuvara gönderildi. Böbrek dokularından elde edilen kesitlerde ERS ile ilişkili zedelenmenin göstergeleri olarak GRP78, CHOP ve *cleaved caspase-3*'ün ekspresyonu immunohistokimyasal yöntemle, ayrıca GRP78 ve CHOP mRNA ekspresyonu RT-PCR ile değerlendirildi.

Bulgular: Çalışmamızın H&E boyama bulgularına göre tek taraflı PÜO ve KÜO sonucu böbreklerde atrofi, glomerüllerde büzüşme, Bowman aralığında genişleme ve tübüllerde dejenerasyon meydana gelmiştir. KÜO ve PÜO gruplarındaki

sıçanların ipsilateral böbreklerinde hem medullada hem de kortekste diğer böbreklere kıyasla GRP78 ekspresyonunda anlamlı artış gözlenmiştir. KÜO ve PÜO gruplarındaki sıçanların ipsilateral böbrek kortekslerinde kontralateral böbreklere kıyasla CHOP ekspresyonunda anlamlı bir artış gözlenirken medullada tüm gruplar arasında anlamlı bir ekspresyon farklılığı saptanmamıştır. ERS ile ilişkili apoptozisi saptamak için *cleaved caspas-3* ekspresyonu değerlendirildiğinde PÜO grubundaki böbreklerde anlamlı bir değişiklik görülmezken KÜO grubundaki sıçanların hem ipsilateral hem de kontralateral böbreklerinde ekspresyonda artış görülmüştür. GRP78 ve CHOP proteinlerine ait mRNA ekspresyonları değerlendirildiğinde PÜO grubunda ipsilateral böbreklerde GRP78 mRNA ekspresyonunda anlamlı artış olduğu, ancak KÜO grubunda böyle bir artışın gerçekleşmediği görülmüştür. CHOP mRNA ekspresyonuna bakıldığında ise PÜO ve KÜO gruplarında ipsilateral böbreklerde artış gözlenmezken, kontralateral böbreklerde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olmasa da artış gözlenmiştir.

Sonuç: Deneysel PÜO ve KÜO modelimizde görülen renal parankimal zedelenmenin patogeneğinde ERS kompleks bir role sahiptir. Burada hem ipsilateral hem de kontralateral böbrekler etkilenmekte olup, gerek hücrel adaptif yanıtı gösteren GRP78 gibi şaperonlar gerekse de apoptotik yanıtı gösteren CHOP ve kaspaz 3 gibi proteinler rol oynamaktadır. Gelecekte PÜO modellerine odaklanan araştırmalar ile renal parankimde gerçekleşen ERS ilişkili zedelenmeye etkili olabilecek ve klinik uygulamada kullanılabilecek moleküller geliştirilebilecektir.

Anahtar kelimeler: Böbrek, üreteral obstrüksiyon, endoplazmik retikulum stresi

8. ABSTRACT

Investigation of Endoplasmic Reticulum Stress in Ipsilateral and Contralateral Kidneys After Unilateral Partial and Complete Ureteral Obstruction in Rats

Aim: Although many studies have been conducted on ureteral obstruction, the effect of ureteropelvic obstruction, which is more common in clinical practice, on the development of endoplasmic reticulum stress (ERS) is unknown. In addition, there is no study comparing the effects of complete and partial ureteral obstruction on ERS in the same experimental model. In order to investigate these effects, it was aimed to determine whether ERS related damage occurred in ipsilateral and contralateral kidneys of rats undergone unilateral partial ureteral obstruction (PUO) and complete ureteral obstruction (CUO), using immunohistochemical and molecular biological methods.

Material and method: In this study, a total of 24 Wistar rats, 21 days old, were divided into 4 groups, each containing 6 rats: Control (C) group, sham (S) group, PUO group, and CUO group. Group C: No surgical procedure was performed. Group S: After laparotomy, the proximal ureter was only dissected from the psoas muscle and no obstruction was performed. Group PUO: The proximal ureter was dissected and released by laparotomy and embedded in the psoas muscle at two points. Group CUO: The proximal ureter was dissected and released by laparotomy and ligated at two points to create complete obstruction. At the end of the two-week experiment period, the subjects belonging to all groups were sacrificed and the ipsilateral and contralateral kidneys were removed. After macroscopic/morphological measurements of the kidneys, each kidney tissue was divided into two parts and sent to the laboratory under suitable conditions for histopathological and molecular biological examinations. Expressions of GRP78, CHOP and cleaved caspase-3 proteins as apoptotic markers of ERS related damage in kidney tissues were evaluated by immunohistochemical method, and also GRP78 and CHOP mRNA expressions were analyzed by RT-PCR.

Results: According to the H&E staining findings of our study, atrophy in the kidneys, shrinkage of the glomeruli, enlargement of the Bowman's space and

degeneration of the tubules occurred as a result of unilateral partial and complete ureteral obstruction. Significantly increased expression of GRP78 was observed in both the medulla and cortex in the ipsilateral kidneys of the CUO and PUO groups when compared to the all other groups. In the CUO and PUO groups, there was a significant increase in the expression of CHOP in ipsilateral kidney cortices when compared to the contralateral kidneys, while no significant difference was detected in medulla between all groups. When the expression of *cleaved caspas-3* was evaluated to determine ERS related apoptosis, no significant change was observed in the kidneys of the PUO group, while increased expression was observed in both ipsilateral and contralateral kidneys of the rats in CUO group. When mRNA expressions of GRP78 and CHOP proteins were evaluated, it was observed that there was a significant increase of GRP78 mRNA level in the ipsilateral kidneys of the PUO group, but no such increase in the CUO group. When CHOP mRNA expression was examined, no increase was observed in the ipsilateral kidneys in the PUO and CUO groups. Additionally, although an increase in CHOP mRNA expressions were observed in contralateral kidneys, those were not statistically significant.

Conclusion: In our experimental model of unilateral PUO and CUO, ERS played an important role in pathogenesis of renal parenchymal damage. Herein, both ipsilateral and contralateral kidneys have been affected through either GRP78 as a protein showing cell adaptive response or CHOP and caspase-3 as proteins indicating apoptotic process. With future researches focused on PUO models, the molecules that can be effective for preventing ERS related renal parenchymal damage will be developed and they can be used in clinical practice.

Keywords: Kidney, ureteral obstruction, endoplasmic reticulum stress

9. KAYNAKLAR

1. Başaklar AC. Böbrek ve üreterin konjenital malformasyonları: Bebek ve Çocukların Cerrahi ve Ürolojik Hastalıkları. Birinci baskı. Başaklar AC (ed). Palme Yayıncılık, 2006. S: 1199-1257.
2. Yalçınkaya F, Özçakar ZB. Management of antenatal hydronephrosis. *Pediatr Nephrol.* 2020 Dec;35(12):2231-2239.
3. Herndon CD. Antenatal hydronephrosis: differential diagnosis, evaluation, and treatment options. *ScientificWorldJournal.* 2006 Mar 5; 6: 2345-65.
4. Woodward M, Frank D. Postnatal management of antenatal hydronephrosis. *BJU Int.* 2002 Jan;89(2):149-56.
5. Nagatoya K, Moriyama T, Kawada N, et al. Y-27632 prevents tubulointerstitial fibrosis in mouse kidneys with unilateral ureteral obstruction. *Kidney Int.* 2002; 61:1684.
6. Chang H, Liu Q, Bai WF, Bai YC, Jia XY, Gao C, Liu QL, Shi SL, Zhou HB. Protective effects of *Amygdalus mongolica* on rats with renal fibrosis based on serum metabolomics. *J Ethnopharmacol.* 2020 Jul 15; 257:112858.
7. Li A, Xu C, Liang P, Hu Y, Shen Y, Hu D, Li Z, Kamel IR. Role of Chemical Exchange Saturation Transfer and Magnetization Transfer MRI in Detecting Metabolic and Structural Changes of Renal Fibrosis in an Animal Model at 3T. *Korean J Radiol.* 2020 May;21(5):588-597.
8. Tsogbadrakh B, Ju KD, Lee J, Han M, Koh J, Yu Y, Lee H, Yu KS, Oh YK, Kim HJ, Ahn C, Oh KH. HL156A, a novel pharmacological agent with potent adenosine-monophosphate-activated protein kinase (AMPK) activator activity ameliorates renal fibrosis in a rat unilateral ureteral obstruction model. *PLoS One.* 2018 Aug 30;13(8): e0201692.
9. Wang W, Luo R, Lin Y, Wang F, Zheng P, Levi M, Yang T, Li C. Aliskiren restores renal AQP2 expression during unilateral ureteral obstruction by inhibiting the inflammasome. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2015 Apr 15;308(8): F910-22.
10. Karabuga I, Akbay K, Turna B, et al. Effect of lisinopril on renal tissue damage in unilateral ureteral obstruction in rats. *Urol Res.* 2012;40(1):27-34.

11. Gorman AM, Healy SJ, Jäger R, Samali A. Stress management at the ER: regulators of ER stress-induced apoptosis. *Phar. Ther.* 2012 Jun;134(3):306-16.
12. Hetz C. The unfolded protein response: controlling cell fate decisions under ER stress and beyond. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2012 Jan 18;13(2):89-102.
13. Iurlaro R, Muñoz-Pinedo C. Cell death induced by endoplasmic reticulum stress. *FEBS J.* 2016 Jul;283(14):2640-52.
14. McIlwain DR, Berger T, Mak TW. Caspase functions in cell death and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2013 Apr 1;5(4): a008656.
15. Şeftalioğlu A, (1998) 'Genel & Özel İnsan Embriyolojisi' 3. Baskı, Ankara.
16. Sadler T.W., Çev. Ed.: Başaklar A.C. 'Langman's Medikal Embriyoloji' 12. Baskı.
17. K.M. Moore, T.V.N. Persaud, Çev. Ed.: Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H. (2002) 'İnsan Embriyolojisi' Nobel Tıp Kitabevleri, 303-314.
18. Yıldırım M, (2000) 'İnsan Anatomisi' Nobel Tıp Kitabevi, 5. Baskı.
19. Ozan H, (2004) 'Ozan Anatomisi' Nobel Tıp Kitabevi, Ankara.
20. Sancak B, Cumhur M. Fonksiyonel Anatomi Baş Boyun ve İç Organlar. 1.baskı. Metu Pres, 1999. S: 290-297.
21. Sancak B, Cumhur M, (2002) 'Fonksiyonel Anatomi, Baş Boyun ve İç Organlar' ODTÜ Geliştirme Vakfı Yay. ve İlet. A.Ş.- METU PRESS, 2. Baskı.
22. Sarsılmaz M, (2000) 'Anatomi' Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.
23. Skandalakis JE, Colborn GL, Weidman TA, Badalament RA, Parrott TS, Galooway NTM, Mirilas P, Scaljon WM. Böbrek ve üreterler: Skandalakis Cerrahi Anatomi Modern Cerrahinin Embriyolojik ve Anatomik Temelleri.
24. Tanagho. E.A. : Anatomy of the genitourinary tract. In Smith's General Urology (13th Edition) Tanagho, E.A. , Mc Aninch J.W. (Eds), Prentice-Hall International Inc. New Jersey, 1992, pp:1-7.
25. Hezlinger D. : Inductive interactions during kidney development. *Semin. Nephrol.* 15:255-262,1995.
26. <https://openstax.org/books/anatomy-and-physiology/pages/25-3-gross-anatomy-of-the-kidney>.
27. Ross MH, Kaye G, Pawlina W. Urinary system: Histology. (4th Edition) Ross MH, Kaye G, Pawlina W(eds). Lippincott Williams Wilkins, 2003. S: 603-621.

28. Guyton AC, Hall JE. Böbrekler ve vücut sıvıları: Tıbbi Fizyoloji. 12. baskı. Yeğen BÇ (Türkçe çeviri). Nobel Tıp Kitabevleri, 2013. S: 285-410.
29. Berne RM, Levy MN. Elements of renal function: Principles of physiology (3th Edition). Berne RM, Levy MN (eds). Mosby, 2000. S: 408-421.
30. Eric PW, Hershel R, Kevin TS. The Kidneys and Regulation of Water and Inorganic Ions: Basic Principles of Renal Physiology. Vander's Human Physiology, 13th Ed. , 2018:491-505.
31. Bozdoğan Ö. Boşaltım sistemi: Fizyoloji. 1. Baskı. Bozdoğan Ö (ed). Palme Yayıncılık, 2000. S: 291-298.
32. Bohnenpoll T, Kispert A. Ureter growth and differentiation. Semin Cell Dev Biol. 2014 Dec; 36:21-30.
33. Meredith F. Campbell, Alan J. Wein, Louis R. Kavoussi, Campbell Walsh Ürolog. 9th edn. Philadelphia: Saunders/Elsevier, 2007.
34. Longrigg N. Minor Calyces as Primary Pacemaker Sites for Ureteral Activity in Man. Lancet 1975; 14: 253-254.
35. Kogan BA. Üreter ve üreteropelvik bileşke hastalıkları. In: Tanagho EA, McAninch JW. Smith Genel Üroloji. 17. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2009: 559-573.
36. Moore KL, Agur AMR. Essential Clinical Anatomy. 3rd Ed., Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2007: 174-180.
37. Anderson JK, Cadeddu JA. Surgical anatomy of the retroperitoneum, adrenals, kidneys and ureters. Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA, (eds). C. Walsh Urology. 10th Ed., Philadelphia: Saunders Elsevier, 2012: 3-32.
38. Carr MC, El-Ghoneimi A. Anomalies and surgery of the ureteropelvic junction in children. Campbell-Walsh Urology. 9th ed. Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC (eds). Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007: 3359-3382.
39. Kiil F. The Function of the ureter and renal pelvis. Philadelphia: WB S., 1957.
40. Ross JA, Edmond P, Kirkland IS. Behaviour of the human ureter in health and disease. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1972.
41. Morita T, Wada I, Saeki H, Tsuchida S, Weiss RM. Ureteral urine transport: changes in bolus volume, peristaltic frequency, intraluminal pressure and volume of flow resulting from autonomic drugs. J Urolog 1987; 137(1): 132-135.

42. Weiss RM. The ureter. Gillenwater JY, Grayhack JT, Howards SS, Mitchell ME (eds). *Adult and Pediatric Urology*. 4th Ed., Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002: 999-1022.
43. Osman F, Romics I, Nyírády P, Monos E, Nádasy GL. Ureteral motility. *Acta Physiol Hung*. 2009 Dec;96(4):407-26.
44. Elder JS: Antenatal hydronephrosis: fetal and neonatal management. *Pediatr Clin North Am* 44:1299-1321, 1997.
45. Gunn TR, Mora JD, Pease P: Antenatal diagnosis of urinary tract abnormalities by ultrasonography after 28 weeks' gestation: incidence and outcome. *Am J Obstet Gynecol* 172(2 Pt 1):479-486, 1995.
46. Morin L, Cendron M, Crombleholme TM, Garmel SH, Klauber GT, D'Alton ME: Minimal hydronephrosis in the fetus: clinical significance and implications for management. *J Urol* 155:2047-2049, 1996.
47. Küpeli S, Küpeli B. Üriner obstrüksiyonlar. Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N (editörler), *Temel Üroloji*, Güneş Kitabevi, Ankara, 1998; 7:270.
48. Elder JS and Dahms B. Histologic renal parenchymal changes secondary to UPJ obstruction. *J Urol*, 1993; 149:640.
49. Coplen DE. Ureteral obstruction and malformations. In: Ashcraft KW, Holcomb GW, Murphy JP. (eds), *Pediatric Surgery* (7th ed) Elsevier Saunders, Pennsylvania 2020: 837-853.
50. Mouriquand P. Congenital anomalies of the pyeloureteral junction and the ureter. In: O'Neill, Rowe M (eds), *Pediatric Surgery* (5th Ed) Mosby-Year Book, St. Louis 1998: 1591-1607
51. Riccabona M., Assessment and management of newborn hydronephrosis. *World J Urol*. 2004 Jun;22(2):73-8.
52. Nguyen HT, Herndon CD, Cooper C, Gatti J, Kirsch A, Kokorowski P, Lee R, Perez-Brayfield M, Metcalfe P, Yerkes E, Cendron M, Campbell JB. The Society for Fetal Urology consensus statement on the evaluation and management of antenatal hydronephrosis. *J Pediatr Urol*. 2010 Jun;6(3):212-31.
53. Zanetta, V. C. et al. Variations in management of mild prenatal hydronephrosis among maternal-fetal medicine obstetricians, and pediatric urologists and radiologists. *J. Urol*. 188, 1935-1939 (2012).

54. Timberlake MD, Herndon CD. Mild to moderate postnatal hydronephrosis--grading systems and management. *Nat Rev Urol*. 2013 Nov;10(11):649-56.
55. Riccabona M, Avni FE, Blickman JG et al. Imaging recommendations in paediatric uroradiology: minutes of the ESPR workgroup session on urinary tract ultrasonography and voiding cystourethrography, Barcelona, Spain, June 2007. *Pediatr Radiol* 2008; 38:138-45.
56. Nguyen HT, Benson CB, Bromley B, Campbell JB, Chow J, Coleman B, Cooper C, Crino J, Darge K, Herndon CD, Odibo AO, Somers MJ, Stein DR. Multidisciplinary consensus on the classification of prenatal and postnatal urinary tract dilation (UTD classification system). *J Pediatr Urol*. 2014 Dec;10(6):982-98.
57. Önen A. An alternative hydronephrosis grading system to refine the criteria for exact severity of hydronephrosis and optimal treatment guidelines in neonates with primary UPJ-type hydronephrosis. *Journal of Pediatric Urology* 2007, 200-5.
58. Brown T, Mandel J, Lebowitz RL. Neonatal hydronephrosis in the era of ultrasonography *AJR*, 1987; 148:959-963
59. Snyder HM 3rd, Colodny AH, Bauer SB, Retik AB: Ureteropelvic junction obstruction in children. *Urol Clin North Am* 7:273-290, 1980.
60. Constantinou C, Hrynczuk J. Urodynamics of the upper urinary tract. *Investigative Urology*. 1976; 14 (3): 233-40.
61. Atwell JD: Familial pelviureteric junction hydronephrosis and its association with a duplex pelvicaliceal system and vesicoureteric reflux. A family study. *Br J Urol* 57:365-369, 1985.
62. Günşar C, Sencan A, Karaca İ, Ceylan H, Fesçekoğlu O, Mir E: Cerrahi tedavi uygulanan üreteropelvik bileşke darlıkları: Bir yaş üstü olgularda on yıllık deneyimimiz. *Pediatric Cerrahi Dergisi* 16:41-46, 2002.
63. Fung LCT, Lakshmanan Y. Anomalies of the renal collecting system: ureteropelvic junction obstruction (pyelocaliectasis) and infundibular stenosis: *Clinical Pediatric Urology*. 4th Edition. Belman AB, King LR, Kramer SA (eds). Martin Dunitz, 2004. S: 559-631.
64. Hemat RAS. Upper urinary tract system: Principles of Modern Urology. Hemat RAS (ed). Urotext, 2003. S: 514-516
65. A Önen: Üreteropelvik bileşke darlığı. *Çocuk Cerrahisi Dergisi* 30 (Ek sayı 2) :55-79, 2016.

66. Vaughan ED Jr, Sorenson EJ, Gillenwater JY: The renal hemodynamic response to chronic unilateral complete ureteral occlusion. *Invest Urol* 8:78-90, 1970.
67. Baker LA, Gomez RA: Embryonic development of the ureter and bladder: acquisition of smooth muscle. *J Urol* 160:545-550, 1998.
68. Cussen LJ: Dimensions of the normal ureter in infancy and childhood. *Invest Urol* 5(2):164-178, 1967.
69. Cussen LJ: The structure of the normal human ureter in infancy and childhood. A quantitative study of the muscular and elastic tissue. *Invest Urol* 5: 179-194, 1967.
70. Josephson S, Grossmann G: Partial ureteric obstruction in the pubescent rat. II. Longterm effects on the renal morphology. *Urol Int* 47: 126-130, 1991.
71. Josephson S, Lännergren K, Eklöf AC: Partial ureteric obstruction in weanling rats. II. Long-term effects on renal function and arterial blood pressure. *Urol Int* 48: 384-390, 1992.
72. Chevalier RL, Kaiser DL: Chronic partial ureteral obstruction in the neonatal guinea pig. I. Influence of uninephrectomy on growth and hemodynamics. *Pediatr Res* 18: 1266-1271, 1984.
73. Chevalier RL, Gomez RA, Jones CE: Developmental determinants of recovery after relief of partial ureteral obstruction. *Kidney Int* 33: 775-781, 1988.
74. Moody TE, Vaughn ED Jr : Relationship between renal blood flow and ureteral pressure during 18 hours of total unilateral urethral occlusion. Implications for changing sites of increased renal resistance. *Invest Urol* 13: 246-251, 1975.
75. Chevalier RL, Sturgill BC, Kaiser DL: Morphologic correlates of renal growth arrest in neonatal partial ureteral obstruction. *Pediatr Res* 21: 338-346, 1987.
76. Kajbafzadeh AM, Payabvash S, Monajemzadeh M, Tavangar SM. Smooth muscle cell apoptosis and defective neural development in congenital ureteropelvic junction obstruction. *J Urol*. 2006 Aug;176(2):718-23; discussion 723.
77. Pintér AB, Horváth A, Hrabovszky Z. The relationship of smooth muscle damage to age, severity of pre-operative hydronephrosis and post-operative outcome in obstructive uropathies. *Br J Urol*. 1997 Aug;80(2):227-33.
78. Williams DI, Kenawi MM. The prognosis pelviureteric obstruction in childhood: A review of 190 cases. *Eur Urol*. 1976; 2:57.

79. Amar AD. Congenital hydronephrosis of lower segment in duplex kidney. *Urology*. 1976; 7:480.
80. Foote J, Blennerhassett J, Wiglesworth F, Mackinnon K. Observations on the ureteropelvic junction. *The Journal of Urology*. 1970; 104 (2): 252-7.
81. Joseph DB, Bauer SB, Colodny AH, et al. Lower pole ureteropelvic junction obstruction and incomplete duplication. *J Urol*. 1989; 41:896.
82. Uehling DT, Gilbert E, Chesney R. Urologic implications of the VATER association. *J Urol*. 1983; 129:352.
83. Uson AC, Cox LA, Lattimer JK. Hydronephrosis in infants and children. Some clinical and pathological aspects. *JAMA*. 1968; 205:323.
84. Williams DI, Karlaftis CM. Hydronephrosis due to pelviureteric obstruction in the newborn. *Br J Urol*. 1966; 38:138.
85. Groth TW, Mitchell ME. Ureteropelvic junction obstruction. In: Coran AG, Adzick NS, Krummel TM, eds. *Pediatric Surgery* (7th ed). Philadelphia: Elsevier Saunders, 2012, pp 1411-25.
86. Lebowitz RL, Griscom NT. Neonatal hydronephrosis, 146 cases. *Radiol Clin North Am*. 1977; 15:49.
87. Kelalis PP, Culp OS, Sticker GB, et al. Ureteropelvic obstruction in children. Experiences with 109 cases. *J Urol*. 1971; 106:418.
88. Al Aaraj MS, Badreldin AM. Ureteropelvic Junction Obstruction. 2021 Jul 13. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan. PMID: 32809575.
89. Ransley PG, Dhillon HK, Gordon I: The postnatal management of hydronephrosis diagnosed by prenatal ultrasound. *J Urol* 144:584-587, 1990.
90. Brandell RA, Brock JW 3rd, Hamilton BD, Cartwright PC, Snow BW: Unilateral hydronephrosis in infants: are measurements of contralateral renal length useful? *J Urol* 156:188-189, 1996.
91. Webb JA, Ultrasonography and Doppler studies in the diagnosis of renal obstruction. *BJU Int* 86 Suppl 1: 25-32, 2000.
92. Fernbach SK, Maizels M, Conway J. Ultrasound grading of hydronephrosis: introduction to the system used by the Society for Fetal Urology. *J Pediatr Radiol*. 1993; 23: 478.

93. Dhillon HK. Prenatally diagnosed hydronephrosis. The Great Ormond Street experience. *BJU* 1998; 81(supp 2): 39-44.
94. EAU Guidelines. Edn. Presented at the EAU Annual Congress Amsterdam 2020. ISBN 978-94-92671-07-3.
95. Shokeir AA, Nijman RJ, el-Azab M, Provoost AP: Partial ureteric obstruction: a study of Doppler ultrasonography and diuretic renography in different grades and durations of obstruction. *Br J Urol* 78: 829-835, 1996.
96. DiSandro MJ, Kogan BA: Neonatal management. Role for early intervention. *Urol Clin North Am* 25: 187-197, 1998.
97. Gordon I, Dhillon HK, Gatanash H, Peters AM: Antenatal diagnosis of pelvic hydronephrosis: assessment of renal function and drainage as a guide to management. *J Nucl Med* 32: 1649-1654, 1991.
98. Maizels M, Smith CK, Firlit CF. The management of children with vesicoureteral reflux and ureteropelvic junction obstruction. *J Urol.* 1984 Apr;131(4):722-7.
99. Churchill BM, Feng WC. Ureteropelvic junction anomalies: Congenital upj problems in children. In: Gearhard JP, Rink RC, Mouriquand PDE, eds. *Pediatric urology*. W.B. Saunders Company, 2001:336.
100. Darge K, Higgins M, Hwang TJ, Delgado J, Shukla A, Bellah R. Magnetic resonance and computed tomography in pediatric urology: an imaging overview for current and future daily practice. *Radiol Clin North Am.* (2013) 51:583–98.
101. Whitaker RH. The Whitaker test. *Urol Clin North Am.* 1979 Oct;6(3):529-39. PMID: 505672.2.6.8.
102. Önen A. Treatment and outcome of prenatally detected newborn hydronephrosis. *Journal of Pediatric Urology* 2007, 1-8.
103. Kohno M, Ogawa T, Kojima Y, Sakoda A, Johnin K, Sugita Y, Nakane A, Noguchi M, Moriya K, Hattori M, Hayashi Y, Kubota M. Pediatric congenital hydronephrosis (ureteropelvic junction obstruction): Medical management guide. *Int J Urol.* 2020 May;27(5):369-376.
104. Vemulakonda VM. Ureteropelvic junction obstruction: diagnosis and management. *Curr Opin Pediatr.* 2021 Apr 1;33(2):227-234.

105. Şimşek F, Tinay İ. Çocuklarda üreteropelvik bileşke obstrüksiyonları. Anafarta, Bedük, Arıkan Temel Üroloji, 3. Baskı, 2007:328-331.
106. Fung LCT, Lakshmanan Y. Anomalies of the renal collecting system: ureteropelvic junction obstruction (pyelocaliectasis) and infundibular stenosis: Clinical Pediatric Urology. 4th Edition. Belman AB, King LR, Kramer SA (eds). Martin Dunitz, 2004. S: 559-631.
107. Uhlig A, Uhlig J, Trojan L, von Hammerstein-Equord A, Strauss A. Surgical approaches for treatment of ureteropelvic junction obstruction-a systematic review and network meta-analysis. BMC Urol. 2019 Nov 11;19(1):112.
108. Hussain SG, Ramaiah KVA. Endoplasmic reticulum: stress, signalling and apoptosis. Current Sci 2007; 93: 1684-96.
109. Rasheva VI, Domingos PM. Cellular responses to endoplasmic reticulum stress and apoptosis. Apoptosis 2009; 14: 996-1007.
110. Düzgün A. Hep2 hücre modelinde deksametazonun unfolded protein response genleri üzerine moleküler etkilerinin araştırılması. Uzmanlık Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, 2010.
111. Kaufman RJ. Orchestrating the unfolded protein response in health and disease. J Clin Invest 2002; 110: 1389-98.
112. Yoshida H. ER stres and diseases, FEBS Journal 2007;274:630-658.
113. Deprez P, Gautschi M, Helenius A. More than one glycan is needed for ER glucosidase II to allow entry of glycoproteins into the calnexin/calreticulin cycle. Mol Cell. 2005; 19: 183-195.
114. Yoshida H, Haze K, Yanagi H, Yura T, MoriK. Identification of the cis-acting endoplasmic reticulum stress response element responsible for transcriptional induction of mammalian glucose-regulated proteins. Involvement of basic leucine zipper transcription factors. J Biol Chem. 1998;273(50):33741-9.
115. Yoshida H, Matsui T, Yamamoto A, Okada T, MoriK. XBP1 mRNA is induced by ATF6 and spliced by IRE1 in response to ER stress to produce a highly active transcription factor. Cell. 2001;107(7):881-91.
116. Chen X, Shen J, Prywes R. The luminal domain of ATF6 senses endoplasmic reticulum (ER) stress and causes translocation of ATF6 from the ER to the Golgi. J Biol Chem. 2002;277(15):13045-52.

117. Bertolotti A, Zhang Y, Hendershot LM, Harding HP, Ron D. Dynamic interaction of BiP and ER stress transducers in the unfolded-protein response. *Nat Cell Biol.* 2000;2(6):326-32.
118. Shi Y, Vatter KM, Sood R, Liang J, Stramm L, Wek RC. Identification and characterization of pancreatic eukaryotic initiation factor 2 α -subunit kinase, PEK, involved in translational control. *Mol Cell Biol.* 1998;18(12):7499-509.
119. Novoa I, Zeng H, Harding HP, Ron D. Feedback inhibition of the unfolded protein response by GADD34-mediated dephosphorylation of eIF2 α . *J Cell Biol.* 2001;153(5):1011-22.
120. Iwawaki T, Hosoda A, Okuda T, Kamigori Y, Nomura-Furuwatari C, Kimata Y, Tsuru A, Kohno K. Translational control by the ER transmembrane kinase/ribonuclease IRE1 under ER stress. *Nat Cell Biol.* 2001;3(2):158-64.
121. Jakob CA, Burda P, Roth J, Aebersold M. Degradation of misfolded endoplasmic reticulum glycoproteins in *Saccharomyces cerevisiae* is determined by a specific oligosaccharide structure. *J Cell Biol.* 1998;142(5):1223-33.
122. Casagrande R, Stern P, Diehn M, Shamu C, Osario M, Zúñiga M, Brown PO, Ploegh H. Degradation of proteins from the ER of *S. cerevisiae* requires an intact unfolded protein response pathway. *Mol Cell.* 2000;5(4):729-35.
123. Rajan S.S., Srinivasan V., Balasubramanyam M., Tatu U., Endoplasmic reticulum (ER) stress and diabetes. *Indian J Med Res.* 2007; 125: 411-424.
124. Wang XZ, Lawson B, Brewer JW, Zinszner H, Sanjay A, Mi LJ, Boorstein R, Kreibich G, Hendershot LM, Ron D. Signals from the stressed endoplasmic reticulum induce C/EBP-homologous protein (CHOP/GADD153). *Mol Cell Biol.* 1996;16(8):4273-80.
125. Barone MV, Crozat A, Tabaei A, Philipson L, Ron D. CHOP (GADD153) and its oncogenic variant, TLS-CHOP, have opposing effects on the induction of G1/S arrest. *Genes Dev.* 1994;8(4):453-64.
126. Harding HP, Novoa I, Zhang Y, Zeng H, Wek R, Schapira M, Ron D. Regulated translation initiation controls stress-induced gene expression in mammalian cells. *Mol Cell.* 2000;6(5):1099-108.

127. Wang XZ, Ron D. Stress-induced phosphorylation and activation of the transcription factor CHOP (GADD153) by p38 MAP Kinase. *Science*. 1996;272(5266):1347-9.
128. Tobiume K, Matsuzawa A, Takahashi T, Nishitoh H, Morita K, Takeda K, Minowa O, Miyazono K, Noda T, Ichijo H. ASK1 is required for sustained activations of JNK/p38 MAP kinases and apoptosis. *EMBO Rep*. 2001;2(3):222-8.
129. Nakagawa T, Yuan J. Cross-talk between two cysteine protease families. Activation of caspase-12 by calpain in apoptosis. *J Cell Biol*. 2000;150(4):887-94.
130. Yoneda T, Imaizumi K, Oono K, Yui D, Gomi F, Katayama T, Tohyama M. Activation of caspase-12, an endoplasmic reticulum (ER) resident caspase, through tumor necrosis factor receptor-associated factor 2-dependent mechanism in response to the ER stress. *J Biol Chem*. 2001;276(17):13935-40.
131. Tripp, B.M., Homsy, Y.L. Neonatal hydronephrosis-the controversy and the management. *Pediatr Nephrol* 9, 503-509 (1995).
132. Ulm Miller F. An operation to produce experimental reversible hydronephrosis in dogs. *J Urol* 1962; 88: 337e41.
133. Yuan, Y., Zhang, F., Wu, J. et al. Urinary candidate biomarker discovery in a rat unilateral ureteral obstruction model. *Sci Rep* 5, 9314 (2015).
134. Togao O, Doi S, Kuro-o M, Masaki T, Yorioka N, Takahashi M. Assessment of renal fibrosis with diffusion-weighted MR imaging: study with murine model of unilateral ureteral obstruction. *Radiology*. 2010 Jun;255(3):772-80.
135. Li Z, Li A, Gao J, Li H, Qin X. Kidney Tissue Targeted Metabolic Profiling of Unilateral Ureteral Obstruction Rats by NMR. *Front Phar*. 2016 Sep 15;7: 307.
136. Q, Yang Y, Wang CL, Hou Y, Chen H. Screening and identification of the differential proteins in kidney with complete unilateral ureteral obstruction. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;8(3):2615-2626. Published 2015 Mar 1.
137. Bábíčková J, Klinkhammer BM, Buhl EM, Djudjaj S, Hoss M, Heymann F, Tacke F, Floege J, Becker JU, Boor P. Regardless of etiology, progressive renal disease causes ultrastructural and functional alterations of peritubular capillaries. *Kidney Int*. 2017 Jan;91(1):70-85.
138. Jing, G., Wang, J. J., & Zhang, S. X. Er stress and apoptosis: A new mechanism for retinal cell death. *Experimental diabetes research*. 2012; 2012: 589589.

139. Cui, W., Li, J., Ron, D., & Sha, B. The structure of the perk kinase domain suggests the mechanism for its activation. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*. 2011; 67 (Pt 5): 423-428.
140. Szegezdi, E., Logue, S. E., Gorman, A. M., & Samali, A. Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *EMBO Rep*. 2006; 7 (9): 880-885.
141. Van Opdenbosch N, Lamkanfi M. Caspases in Cell Death, Inflammation, and Disease. *Immunity*. 2019 Jun 18;50(6):1352-1364.
142. Oakes SA, Papa FR. The role of endoplasmic reticulum stress in human pathology. *Annu Rev Pathol*. 2015; 10:173-194.
143. Xiang C, Wang Y, Zhang H, Han F. The role of endoplasmic reticulum stress in neurodegenerative disease. *Apoptosis*. 2017;22(1):1-26.
144. Ariyasu D, Yoshida H, Hasegawa Y. Endoplasmic Reticulum (ER) Stress and Endocrine Disorders. *International journal of molecular sciences*. 2017; 18(2): 382
145. Kazaz IO, Demir S, Yulug E, et al. N-acetylcysteine protects testicular tissue against ischemia/reperfusion injury via inhibiting endoplasmic reticulum stress and apoptosis. *J Pediatr Urol*. 2019;15(3): 253.e1-253.e8.
146. Li J, Lee AS. Stress induction of GRP78/BiP and its role in cancer. *Current molecular medicine*. 2006; 6(1): 45-54.
147. Li SS, Ye JM, Deng ZY, Yu LX, Gu XX, Liu QF. Ginsenoside-Rg1 inhibits endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis after unilateral ureteral obstruction in rats. *Ren Fail*. 2015;37(5):890-895
148. Myoishi M, Hao H, Minamino T, Watanabe K, Nishihira K, Hatakeyama K, Asada Y, Okada K, Ishibashi-Ueda H, Gabbiani G, Bochaton-Piallat ML, Mochizuki N, Kitakaze M. Increased endoplasmic reticulum stress in atherosclerotic plaques associated with acute coronary syndrome. *Circulation*. 2007 Sep 11;116(11):1226-33.
149. Nakka VP, Gusain A, Raghubir R. Endoplasmic reticulum stress plays critical role in brain damage after cerebral ischemia/reperfusion in rats. *Neurotox Res*. 2010 Feb;17(2):189-202.
150. Chiang CK, Hsu SP, Wu CT, Huang JW, Cheng HT, Chang YW, Hung KY, Wu KD, Liu SH. Endoplasmic reticulum stress implicated in the development of renal fibrosis. *Mol Med*. 2011;17(11-12):1295-305.

151. Klein J, Gonzalez J, Miravete M, Caubet C, Chaaya R, Decramer S, Bandin F, Bascands JL, Buffin-Meyer B, Schanstra JP. Congenital ureteropelvic junction obstruction: human disease and animal models. *Int J Exp Pathol*. 2011 Jun;92(3):168-92.
152. Kim W, Moon SO, Lee SY, Jang KY, Cho CH, Koh GY, Choi KS, Yoon KH, Sung MJ, Kim DH, Lee S, Kang KP, Park SK. COMP-angiopoietin-1 ameliorates renal fibrosis in a unilateral ureteral obstruction model. *J Am Soc Nephrol*. 2006 Sep;17(9):2474-83.
153. Ibrahim IM, Abdelmalek DH, Elfiky AA. GRP78: A cell's response to stress. *Life Sci*. 2019 Jun 1;226: 156-163.
154. Zhang C, Gao J, Zhang L. Effect of laminarin on the expression of GRP78 and GRP94 in rat after unilateral ureteral obstruction. *Scand J Urol Nephrol*. 2012 Aug;46(4):267-72.
155. Marciniak SJ, Yun CY, Oyadomari S, Novoa I, Zhang Y, Jungreis R, Nagata K, Harding HP, Ron D. CHOP induces death by promoting protein synthesis and oxidation in the stressed endoplasmic reticulum. *Genes Dev*. 2004 Dec 15;18(24):3066-77.
156. Yang H, Zhang W, Xie T, Wang X, Ning W. Fluorofenidone inhibits apoptosis of renal tubular epithelial cells in rats with renal interstitial fibrosis. *Braz J Med Biol Res*. 2019 Oct 28;52(11): e8772.
157. Chowdhury I, Tharakan B, Bhat GK. Caspases-an update. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 2008 Sep;151(1):10-27.
158. Zhang C, Lu Y, Tong QQ, Zhang L, Guan YF, Wang SJ, Xing ZH. Effect of stachydrine on endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in rat kidney after unilateral ureteral obstruction. *J Asian Nat Prod Res*. 2013;15(4):373-81.