

SEYİDE GÖRKEM ZEYBEK

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL-2022



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

ÜRETEROPELVİK BİLEŞKE
OBSTRÜKSİYONU PATOGENEZİNDE
İDRAR KASPAZ-3 VE SİTOKROM C
DÜZEYLERİNİN ÖNEMİ

SEYİDE GÖRKEM ZEYBEK

DANIŞMAN
DOÇ. DR. CANAN KÜÇÜKGERGİN

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

İSTANBUL-2022



ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince engin bilgi ve deneyimleriyle bana rehberlik eden, başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Seldağ Bekpınar olmak üzere Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki bütün hocalarıma,

Yüksek lisans eğitimimin süresince, bilgi ve tecrübesini benden esirgemeyen, kullandığı her kelimenin eğitim hayatıma kattığı önemi hiçbir zaman unutmayacağım değerli danışman hocam Doç. Dr. Canan Küçükgergin'e,

Tez çalışmamda değerli katkıları bulunan İstanbul Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'ndaki Prof. Dr. Orhan H. Ziylan ve Prof. Dr. Tayfun M. Oktar'a,

Tez çalışma sürecinde yanımda olan aileme, özellikle hayatımın her evresinde beni destekleyen, cesaretlendiren ve moral veren sevgili annem Nedret Kollu'ya ve her alanda olduğu gibi çalışma sürecimde de tüm zorlukları benimle göğüsleyen, benden bir an olsun desteğini esirgemeyen değerli eşim Adem Zeybek'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Seyide Görkem Zeybek
İstanbul, 2022

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TABLolar LİSTESİ	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	viii
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Böbreğin fonksiyonları	2
2.1.1. Filtrasyon	2
2.1.2. Tübüler reabsorbsiyon	2
2.1.3. Tübüler sekresyon	3
2.2. Böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesi	3
2.2.1. Üre	4
2.2.2. Kreatinin	4
2.2.3. Kreatinin klirensi	4
2.2.4. İnülin klirensi	5
2.3. Böbrek yetmezliği	5
2.3.1. Akut böbrek yetmezliği	5
2.3.2. Kronik böbrek yetmezliği	5
2.4. Hidronefroz	5
2.4.1. Antenatal hidronefroz sebepleri	7
2.4.2. Hidronefrozun evreleme sistemi	8
2.5. Üreteropelvik bileşke (ÜPB) darlığı	10
2.6. Hidronefrozda rol Oynayan hücre ölüm mekanizmaları	10
2.6.1. Apoptoz	10
2.6.2. Nekroz	11
2.7. Kaspazlar	11
2.8. Prenatal tanıli unilateral hidronefrozda potansiyel idrar belirleyicileri	14

2.8.1. Sitokrom c	15
2.8.2. Kaspaz-3	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. Hasta seçimi	21
3.2. Yöntem	21
3.2.1. İdrar örneklerinin elde edilmesi	21
3.2.2. İdrar örneklerinde belirleyici düzeylerinin ölçümü	22
3.2.2.1. İdrar kaspaz-3 düzeyinin ölçülmesi	22
3.2.2.2. İdrar sitokrom c düzeyinin ölçülmesi	22
3.3. Gereçler	22
3.4. İstatistikler	23
4. BULGULAR	24
4.1. Pyeloplasti, NOD ve kontrol gruplarına ait demografik ve klinik veriler	24
4.2. Pyeloplasti, NOD ve kontrol gruplarındaki belirleyici düzeyleri	25
4.2.1. Pyeloplasti, NOD ve kontrol gruplarında idrar kaspaz-3 düzeyleri	25
4.2.2. Pyeloplasti, NOD ve kontrol gruplarında idrar Sitokrom c düzeyleri	26
4.3. Pyeloplasti grubunda preoperatif ve postoperatif uzun dönem idrar kaspaz 3 ve sitokrom c düzeyleri.....	26
4.4. NOD grubunda idrar belirleyicileri, APD, DRF arasında korelasyon düzeyleri ...	27
4.5. Pyeloplasti grubunda idrar belirleyicileri, APD, DRF arasında korelasyon düzeyleri.....	29
4.6. Pyeloplasti ve NOD gruplarında idrar Kaspaz 3 ve Sitokrom c düzeylerinin ROC Analizi.....	32
5. TARTIŞMA.....	34
6. SONUÇLAR	40
KAYNAKLAR.....	41
HAM VERİLER.....	49
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	53

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1: Antenatal evrede hidronefroz nedenleri.....	8
Tablo 2.2: Kaspazların sınıflandırılması.....	12
Tablo 4.1: Pyeloplasti, NOD ve kontrol gruplarına ait demografik ve klinik veriler	24
Tablo 4.2: Pyeloplasti grubunda preoperatif ve postoperatif belirleyici düzeyleri	27
Tablo 4.3: Kaspaz düzeylerinin pyeloplasti ayırımında 2X2 doğruluk tablosu	33



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1 İdrar oluşumu.....	3
Şekil 2.2 Hidronefroz nedenleri	6
Şekil 2.3: Hidronefrotik böbrekte pelvis renalis ön arka çap ölçümü	9
Şekil 2.4 Kaspazların aktivasyon yolları	14
Şekil 2.5: Sitokrom c'nin üç boyutlu yapısı ve yapısındaki Hem c grubu	15
Şekil 2.6: Elektron transport sisteminde sitokrom c'nin rolü	17
Şekil 2.7 Sitokrom c nin kaspaz aktivasyonu	18
Şekil 2.8: Kaspaz-3'ün yapısı	19
Şekil 2.9: CAD mekanizması	20
Şekil 4.1: Preoperatif, postoperatif, NOD ve kontrol gruplarında idrar kaspaz-3 değerleri	25
Şekil 4.2: Preoperatif, postoperatif, NOD ve kontrol gruplarında idrar sitokrom c değerleri	26
Şekil 4.3: NOD grubunda APD ile kaspaz 3 arasındaki korelasyon düzeyleri	27
Şekil 4.4: NOD grubunda APD ile sitokrom c arasındaki korelasyon düzeyleri	28
Şekil 4.5: NOD grubunda DRF ile kaspaz 3 arasındaki korelasyon düzeyleri	28
Şekil 4.6: NOD grubunda DRF ile sitokrom c arasındaki korelasyon düzeyleri	29
Şekil 4.7: Pyeloplasti grubunda APD ile kaspaz 3 arasındaki korelasyon düzeyleri	30
Şekil 4.8: Pyeloplasti grubunda APD ile sitokrom c arasındaki korelasyon düzeyleri ..	30
Şekil 4.9: Pyeloplasti grubunda DRF ile kaspaz 3 arasındaki korelasyon düzeyleri	31
Şekil 4.10: Pyeloplasti grubunda DRF ile sitokrom c arasındaki korelasyon düzeyleri.	31
Şekil 4.11: İdrar kaspaz 3 düzeyleri için ROC (<i>Receiver Operating Curve</i>) analizi	32

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AIF	Apoptoz indükleyici faktör
APAF1	Apoptotik proteaz aktive edici faktör-1
APD	Anteroposterior pelvis çapı
ARF	Akut böbrek yetmezliği
aSAH	Anevrizmal subaraknoid kanama
ATP	Adenozin trifosfat
BOS	Beyin omurilik sıvısı
CAD	Kaspazla aktiflenmiş DNaz
CYCS	Sitokrom c, somatik
DIABLO	Düşük pI ile doğrudan IAP (apoptoz proteinlerinin inhibitörü) bağlayıcı protein
DISC	Ölüm indükleyici sinyalleme kompleksi
DRF	Diferansiyel renal fonksiyon
DRS	Dinamik renal sintigrafi
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
Endo-G	Endonüleaz G
ETS	Elektron transport sistemi
FADD	Fas ile ilişkili ölüm alanı
GFP	Yeşil floresan protein
GFR	Glomerüler Filtrasyon Hızı
HI	Hidronefroz indeksi
HSP27	Isı şok proteini-27
HSP70	Isı şok proteini-70
IAF	İnhibitör apoptotik faktör
IAP	Apoptoz proteinlerinin inhibitörü

ICAD	Kaspazla aktiflenmiş DNaz inhibitörü
MCDK	Multikistik displastik böbrek
MIM	Mitokondriyal iç membran
MOM	Mitokondriyal dış membran
MRI	Manyetik rezonans görüntüleme
NOD	Non obstrüktif dilatasyon
PAR	Poli (ADP-riboz)
PARP1	Poli (ADP-riboz) polimeraz 1
PIDD	P53 ile indüklenen ölüm alanı proteini
PTP	Geçirgenlik geçiş poru
PUV	Posterior üretral valv
RIP	Reseptör etkileşimli protein
ROS	Reaktif oksijen türleri
SAH	Subaraknoid kanama
SFU	Fetal Üroloji Derneği
SMAC	İkinci mitokondri kökenli kaspaz aktivatörü
TRADD	TNF reseptörü ilişkili ölüm alanı
TRAIL	TNF ile ilişkili Apoptoz İndükleyen Ligand Reseptörü-1
UP	Üreteropelvik
UV	Üreterovezikal
ÜPB	Üreteropelvik bileşke
VUR	Vezikoüreteral reflü

ÖZET

Üreteropelvik Bileşke Obstrüksiyonu Patogenezinde İdrar Kaspaz-3 ve Sitokrom c Düzeylerinin Önemi

ÖZET

Giriş:

Bu çalışmanın amacı, unilateral hidronefrozlu hastaların idrar örneklerinde sitokrom c ve kaspaz-3 düzeylerini araştırmak ve cerrahi girişim uygulanan hastalarda postoperatif tedavi başarısını değerlendirmede üriner biyobelirteç düzeylerindeki farklılıkları incelemektir.

Yöntem:

Klinik olarak üreteropelvik bileşke obstrüksiyonu tanısı konan 33 hastadan toplam 66 idrar örneği (ameliyat öncesi ve sonrası) toplandı. Tüm hastalarda tek taraflı hidronefroz vardı ve açık pyeloplasti (Pyeloplasti grubu) uygulandı. Hastaların anteroposterior pelvis çapı (APD) ve diğer ultrasonografi sonuçları ile sintigrafik diferansiyel renal fonksiyon (DRF) değerleri kaydedildi. Birinci kontrol grubunu nonobstrüktif hidronefrozlu [nonobstrüktif dilatasyon (NOD) grubu] olan 32 hasta, ikinci kontrol grubunu ise 34 sağlıklı çocuk oluşturdu. Sitokrom c ve kaspaz-3 ölçümleri ELISA yöntemi kullanılarak yapıldı ve sonuçlar kreatinin seviyelerine oranlanarak verildi.

Bulgular:

Preoperatif üriner kaspaz-3 seviyeleri, NOD ve kontrol grupları ile postoperatif seviyelere göre anlamlı derecede yüksekti. Postoperatif dönemde bakılan üriner kaspaz-3 seviyeleri düştü ve kontrol gruplarına benzer şekilde saptandı. Tüm gruplar arasında idrar sitokrom c seviyelerinde anlamlı bir değişiklik olmadı. Pyeloplasti grubunda APD ile DRF arasında negatif korelasyon olmasına rağmen bu parametreler ile diğer gruplar arasında korelasyon yoktu. ROC (Receiver Operating Curve) analizinde pyeloplasti yapılan hastalar için üriner kaspaz 3 düzeyi orta düzeyde tanısallık için uygun bulunmuştur.

Sonuç:

UPJ obstrüksiyonu olan hastalarda üriner kaspaz-3 seviyeleri artarken sitokrom c seviyelerinde anlamlı bir değişiklik izlenmedi ve bu da üriner obstrüksiyonda apoptoz mekanizmasında ekstrinsik yolağının rol oynadığını desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Üreteropelvik Bileşke Obstrüksiyonu, NOD, Kaspaz-3, Sitokrom c

ABSTRACT

The Importance of Urine Caspase-3 and Cytochrome c Levels in the Pathogenesis of Ureteropelvic Junction Obstruction

Introduction: The aims of this study are to investigate the cytochrome c and caspase-3 levels in the urine samples of patients with unilateral hydronephrosis, and to examine the differences in urinary biomarker levels in the evaluation of postoperative treatment success in patients who underwent surgical intervention.

Method: A total of 66 urine samples (before and after surgery) were collected from 33 patients with clinically demonstrated obstruction of ureteropelvic junction. All patients had unilateral hydronephrosis, and underwent open pyeloplasty (Pyeloplasty group). Ultrasonography results were obtained in terms of anteroposterior pelvis diameter (APD) and scintigraphic differential renal function (DRF). First control group included 32 patients with non-obstructive hydronephrosis [non-obstructive dilation (NOD) group], whereas 34 healthy children formed the second control group. Cytochrome c and caspase-3 measurements were performed using the ELISA method and the results were calculated by dividing by serum creatinine levels.

Results: Urinary caspase-3 levels were significantly higher preoperatively when compared to postoperative levels as well as NOD and control groups. In the postoperative period, the urinary caspase-3 levels decreased and were detected similar to the control groups. There was no significant change in urinary cytochrome c levels between all groups. Although there was a negative correlation between APD and DRF in the pyeloplasty group, there was no correlation between these parameters and other urinary groups. In ROC (Receiver Operating Curve) analysis, urinary caspase 3 level showed moderate diagnostic sensitivity and specificity for distinguishing patients that require pyeloplasty.

Conclusion: Urinary caspase-3 levels increased while cytochrome c levels did not change significantly in patients with Ureteropelvic Junction (UPJ) obstruction which support that extrinsic apoptosis pathway plays a role in the cell death mechanism in urinary obstruction.

Keywords: Ureteropelvic Junction Obstruction, NOD, Caspase-3, Cytochrome c

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Böbreğin başlıca görevi, protein barındırmayan ancak homeostazın devamlılığı için metabolik son ürünleri içinde barındıran, yeterli oranlarda su ve elektrolit miktarına sahip olan bir ultrafiltrat meydana getirmektir. Böbrek üreteropelvisinde meydana gelen obstrüksiyon kaynaklı basıncın yükselmesi ile ultrafiltratın alt üriner sisteme gönderilememesi, organ kaybıyla sonuçlanabilen çok sayıda probleme neden olmaktadır. Canlı doğumlarda 1500'de bir görülen üreteropelvik bileşke (ÜPB) darlığı, çocuklardaki hidronefrozun en önemli nedenidir (1). Prenatal ultrasonografide her 100 gebelikten 1 ila 5 civarında saptanan antenatal hidronefroz yüksek gözlenme sıklığına sahip bir patalojidir. Postnatal dönemde antenatal hidronefroz etiyolojisinde ilk sırada %41-88 oranında geçici hidronefroz gelmekle birlikte, geçici hidronefrozu takiben yaklaşık %10-30 oranda ÜPB obstrüksiyonu gözlenmektedir (2).

Obstrüktif nefropatili hastaların klinik tablosunun izlenmesi ve tanısında yararlanılan radyolojik ve biyokimyasal testlere ilişkin temel problemler, bu alanda çok sayıda çalışma bulunmasına rağmen halen devam etmektedir. Renal ultrasonografi, plazma kreatinin değerleri ve diüretikli radyonüklid renal tarama gibi böbrek yapı ve işlevi ile ilgili bilgi veren klinik ölçümler, hastaların ileri dönemlerdeki klinik seyrini öngörmede eksik kalmaktadır. Renal hasarı engellemek adına klinik uygulamalarda, gerçekleştirilecek cerrahi operasyonun, hangi koşullarda gerekli olduğu halen net olarak belirlenememiş; ancak randomize çalışmalarda prenatal tanısı olan ÜPB obstrüksiyonu cerrahi müdahalenin gerekli olduğu hasta oranının yalnızca %19-29 civarında olduğu gösterilmiştir (3,4).

Dilatasyon olan her böbrekte, obstrüksiyon saptanmamakla birlikte bu ayrımı yapmak oldukça güçtür. Günümüzde hastada obstrüksiyon olduğunu tanımlayan, tümüyle uygun görülmüş referans standartlar bulunmamaktadır. Tanı konarken, genellikle tekrarlamayı gerektiren birçok radyolojik ve sintigrafik incelemede tam anlamıyla spesifik olmayan limit değerlerden yararlanılmaktadır. Tanı yöntemlerinin bazılarında radyokontrast veya radyoizotop özelliğine sahip materyallerin enjeksiyonu doğrultusunda radyasyona maruz kalma durumu ciddi problem teşkil etmektedir. Bu nedenle hastaların non invaziv olmasından dolayı tercihen idrar örneklerinde, üriner obstrüksiyonu dolayısıyla hastalığın seyrinin takibini ve tedavi başarısının değerlendirilmesini sağlayan yeni belirteçlerin bulunması önemli faydalar sağlayacaktır.

Bu çalışmanın amacı, obstrüksiyon tespit edilmiş tek taraflı hidronefrozu olan ve cerrahi müdahale yapılan hastaların idrar örneklerinde sitokrom c ve kaspaz-3 düzeylerini incelemek ve operasyon sonrası tedavi başarısının değerlendirilmesinde belirteç olarak kullanımlarının uygun olup olmadığını saptamaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Böbreğin Fonksiyonları

Böbrek, metabolik atık maddelerini vücuttan uzaklaştırma, vücut sıvılarının bileşimi ve hacminin kontrolü, elektrolit dengesinin sağlanması, arter basıncın düzenlenmesi gibi birçok homeostatik fonksiyonu yerine getiren bir organdır (5).

İnsanda böbrekler, her biri idrar oluşturma kapasitesine sahip 800.000-1.000.000 adet nefrondan meydana gelmektedir. Nefronlar, plazma sıvısının filtrasyonunun gerçekleştiği glomerüler kapiller yumaktan ve filtrattan idrarın olduğu tübüllerden oluşmaktadır. Glomerüler kapillerde filtrasyonu gerçekleştiren sıvı, kapilleri çevreleyen Bowman kapsülünden geçerek, proksimal tübüle gelir. Nefronların metabolik yönden en aktif bölümü olan proksimal tübülden, böbrek medullasının derinlerine doğru inerek Henle kulbuna geçen sıvı, böbreğin korteksine yerleşmiş bulunan distal tübüllere ulaşır. Buradan, birleştirici tübül ve kortikal toplayıcı tübüle ve son olarak sıvının böbrek pelvisine boşalmasını sağlayan toplayıcı kanala geçer (5).

Atık maddelerin böbrek tarafından idrar yoluyla uzaklaştırılması glomerüler filtrasyon, tübüller reabsorbsiyon ve tübüller sekresyon yoluyla gerçekleşmektedir (Şekil 2.1).

2.1.1. Filtrasyon

İdrar oluşumu, kanın proteinlere geçirgenliği bulunmayan glomerüler kapillerden Bowman kapsülüne filtrasyonu ile başlar ve bu sıvı glomerüler filtrat adını alır. Proteinler ve kısmen proteinlere bağlı taşınan maddeler (kalsiyum ve yağ asitleri gibi) dışında glomerüler filtrat ile plazma içeriği neredeyse aynıdır. Sağlıklı bir insanda glomerüler filtrasyon hızı (GFR), 120 ml/dk ya da 180 litre/gün'dür (6).

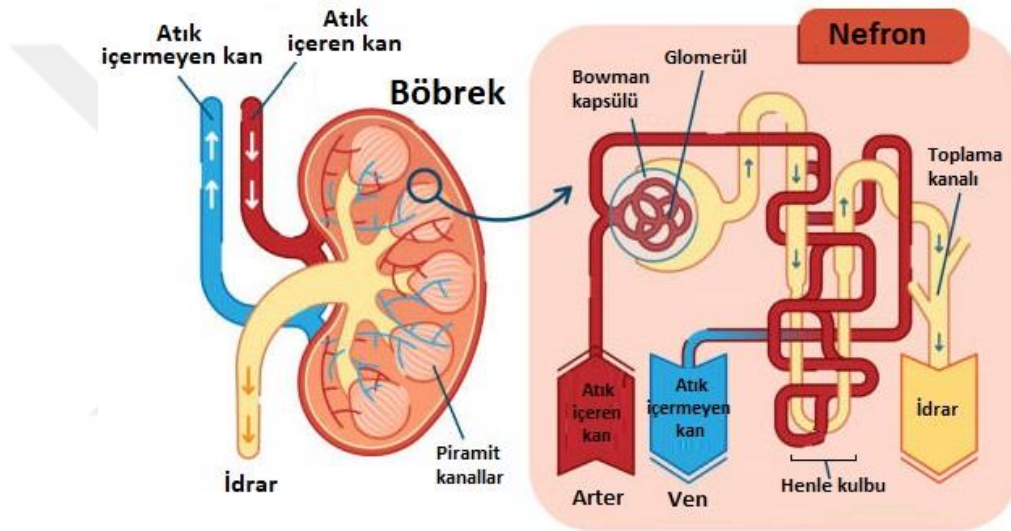
2.1.2. Tübüler Reabsorbsiyon

Glomerüler filtrat, idrar olarak atılmadan önce bir dizi selektif emilim gerçekleştiren ve birbirini takip eden kısımlar boyunca yol alır. Bu yol boyunca, bazı maddelerin tübüllerden geri emilimleri gerçekleşirken, diğerleri kandan tübül lümenine salgılanır. Su ve klor iyonları dışındaki maddelerin tübüler geri emilimi aktif transportla gerçekleşir. Glomerüler filtratın, % 60-80'i Na^+ , Cl^- , HCO_3^- , Ca^{+2} , PO_4^{-3} ve diğer

iyonlar dahil olmak üzere proksimal tübülenden geri emilir. Glikoz ve amino asitlerin neredeyse tamamı geri emilmektedir. Henle kulbunda Cl^- ve Na^+ reabsorbe edilerek, seyreltik idrar meydana getirilmektedir (7,8).

2.1.3. Tübüler Sekresyon

İdrar oluşumunda çoğu madde glomerüler filtrasyon ile idrara dönüşürken, bazı maddeler direkt olarak glomerüler tübüllerin epitel hücrelerinden tübüler lümene sekrete edilerek idrara gönderilmektedir (5).



Şekil 2.1 İdrar Oluşumu

2.2. Böbrek Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi

Böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesinde, klinikte kullanılan en uygun yöntem GFR değerlendirmesidir. GRF ölçümünde kullanılan testlerde, glomerüler kapillerin proteinlere geçirgen olmamasından dolayı, seçilen maddenin proteinlere bağlanmaması ve dolayısıyla glomerüllerden serbestçe filtre olması gerekmektedir. Bunun yanında seçilen maddenin, böbreklerde metabolize olmaması, tübüler geri emiliminin ve sekresyonunun bulunmaması önemlidir. Ayrıca klinikte uygulanabilmesi adına seçilen maddenin kandaki diğer maddeler ile etkileşime girmemesi ve GFR'yi etkileyici bir özelliğinin bulunmaması gerekmektedir. Böbrek fonksiyon

değerlendirmesinde kullanılan göstergeler, serum üre düzeyleri, serum kreatinin düzeyleri, kreatinin klirensi ve inülin klirensidir (5,9).

2.2.1. Üre

Protein yıkımı ile karaciğerde açığa çıkan amonyaktan sentezlenen üre, klinikte tercih edilen testlerden biri olsa da böbrek fonksiyonlarında bozukluk olmadan da değişim gösterebilmektedir. Bu durumun nedeni, ürenin karaciğerde sentezlenmesi ve tübüller reabsorbsiyonunun bulunmasıdır. Üre testi, üre içerisindeki azot ölçümü ile kan üre azotu (BUN) sonuçlarının alınmasıyla gerçekleştirilmektedir. BUN düzeyi referans aralıkları laboratuvarlarda değişim gösterebilmekle birlikte, genellikle 10-21 mg/dL olarak alınmaktadır. BUN düzeylerindeki yükseliği böbrek fonksiyon bozukluklarını işaret etmektedir (5,9).

2.2.2. Kreatinin

Sentez oranı kas kütlesiyle bağlantılı olan kreatinin, kreatinden kas metabolizması sonucunda meydana gelmektedir. Klinikte serum kreatinin düzeyleri, BUN düzeylerine göre daha değerli olsa da, BUN düzeylerine benzer şekilde böbrek fonksiyonlarında bozukluk olmadan da değişim gösterebilmektedir. Bu durumun nedeni, kas yıkımını arttıran ağır egzersiz ve travma gibi olgularda kreatinin salımının ve dolayısıyla serum kreatinin düzeylerinin artmasıdır. Sağlıklı insanlarda, kreatininin tübüler sekresyonu % 10-15 değerleri arasında seyrederken, böbrek yetmezliği gibi ağır renal disfonksiyonlarda bu oran % 40'ları bulabilmektedir (5,9).

2.2.3. Kreatinin Klirensi

Dolaşımdaki bir maddenin böbrekler vasıtasıyla birim zamanda, tamamen arındırıldığı plazma miktarı uzaklaştırılan maddenin böbrek klirensidir. Böbrek klirensi, renal fonksiyonun değerlendirilmesi noktasında faydalı bir yaklaşım sağlamaktadır. Klirens hesabında, tamamının glomerül filtrasyonu ile uzaklaştırılmasından dolayı kreatinin ve inülin gibi maddeler tercih edilmektedir. Kreatinin klirensinde, az da olsa bir miktar kreatinin tübüllerden salgılandığından, idrarla atılan kreatinin miktarı glomerüler filtrasyonu gerçekleştiren kreatinin miktarına kıyasla biraz daha fazladır (5,10).

2.2.4. İnülin Klirensi

Böbrek klirensi hesaplamasının esası, bir maddenin vücuda verilen miktarı, glomerüler filtrasyon miktarına ve idrar ile atım miktarına eşit olmasına dayanmaktadır. Bu esası sağlamak için, vücuda verilen maddelerin tamamının filtre edilmesi, tübüler reabsorbsiyonunun ve sekresyonunun olmaması gerekmektedir. Bu noktada inülinin, kreatininde olduğu gibi az miktarda da olsa tübüler sekresyonu bulunmadığından dolayı, kreatinine göre daha duyarlıdır. İnülin, GFR ölçümü amacıyla vücuda damar yolu vasıtasıyla verilmektedir (5,10).

2.3. Böbrek Yetmezliği

Çeşitli nedenlerle ortaya çıkabilen böbrek yetmezliği, mortalitenin önemli nedenleridendir. Akut ve kronik olmak üzere iki sınıfta incelenmektedir (11).

2.3.1. Akut Böbrek Yetmezliği

Akut böbrek yetmezliği, renal fonksiyonlarda meydana gelen ani kayıp ve azotlu metabolik madde retansiyonu ile karakterize bir hastalıktır. GFR düşüşü oldukça hızlı olan akut böbrek yetmezliği, tedavi ile genellikle geri dönüşümlüdür. Hasarın meydana geldiği bölgeye göre postrenal, renal ve prerenal olarak sınıflandırılmaktadır (12-14).

2.3.2. Kronik Böbrek Yetmezliği

Kronik böbrek yetmezliği, nefronlarda ilerleyici bir kayıp ile ortaya çıkan ve geri dönüşümsüz olan bir hastalıktır. GFR düşüşü akut böbrek yetmezliğine kıyasla yavaştır. Nefron sayılarında meydana gelen düşüş ile geriye kalan fonksiyonel nefronların üzerine düşen yük artar ve kreatinin seviyesi zamanla yükselir. Kalan fonksiyonel nefronların böbreğin tüm yükünü üstlenmesinden dolayı, böbreğin idrarı seyreltme ve konsantre etme özelliği bozulmaya başlar. Dolayısıyla böbreğin vücuttan uzaklaştıramadığı maddelerden kaynaklı olarak ödem, asidoz ve üremi gelişir (15).

2.4. Hidronefroz

Böbrek büyümesi olarak bilinen hidronefroz, çeşitli nedenlerle idrarın renal pelviste birikmesinden dolayı pelvisin genişlemesi, şişmesidir. Genellikle gebelik evresinde (antenatal) saptanarak takibe alınır. Hidroüreteronefroz ise pelvisin yanında üreterlerin de genişlemesi ile ortaya çıkan bir tablodur. Hidroüreteronefroz gelişimi, idrar akımına engel olan darlığın böbreğin daha alt seviyelerinde olduğunu gösterir (16,17).

Hidronefrozun başlıca nedenleri;

Konjenital anomaliler: Antenatal hidronefroz gebelik sırasında en sık rastlanan üriner anomalidir.

Taşlar: Böbrek ve idrar yollarındaki taşlar

Prostat büyümesi: Prostat hipertrofisi / hiperplazisi

Tümörler: Uterus serviki, uterus gövdesi, mesane ve prostatta oluşan tümörler

Retroperitoneal fibrozis: Bağırsakların arkasındaki bölgede meydana gelen, radyoterapi ve enfeksiyon kaynaklı bağ dokusu artış olarak bilinmektedir.

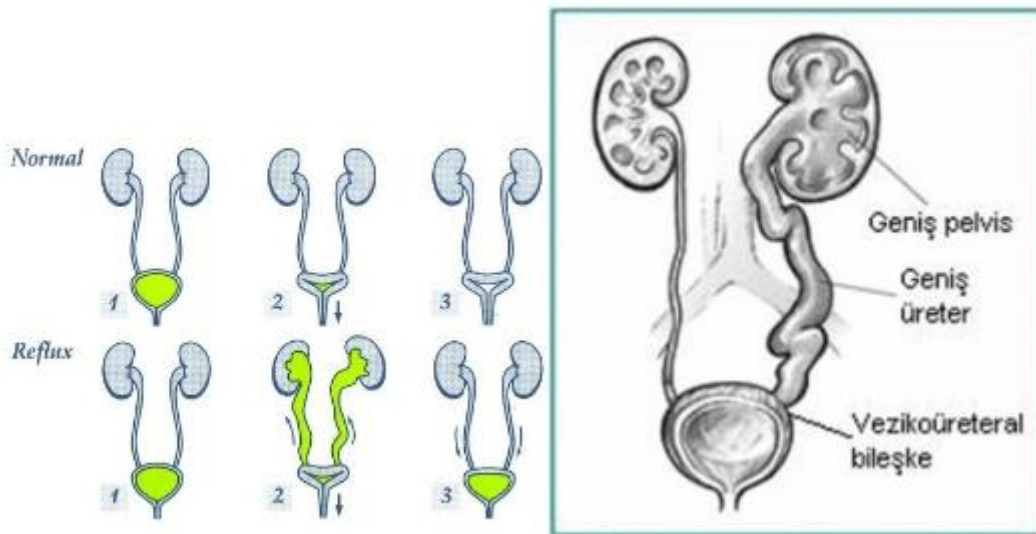
Analjezik nefropatisi: Özellikle, bazı ilaçların neden olduğu “analjezik nefropatisi”nde böbrek dokusunda nekrozlar gözlenebilmektedir. Nekrotik böbrek dokusu parçaları bulundukları yerlerden kolayca koparak idrar akımıyla sürüklenmekte ve dar geçitleri tıkayabilmektedir.

Kan pıhtısı: Böbrek ve mesanede oluşan taşlardan kaynaklı kanamaların sonucunda ortaya çıkabilen büyük kan pıhtıları tıkanmaya neden olabilmektedir

Gestasyonda fetüsün basısı

Uterus prolapsus

Mesanenin fonksiyonel bozuklukları



Şekil 2.2 Hidronefroz Nedenleri; 1. Üretero Pelvik Darlık, 2. Veziko Üreteral Refü, 3. Üreterovezikal Darlık

Hidronefrozun nedenleri arasında insidansı en yüksek (% 55-60) olanı üreteropelvik bileşke darlığıdır. Hidronefroz gelişiminin diğer nedenleri arasında üreteropelvik bileşke (ÜPB) darlıktan sonra görülme sıklığı yüksek olanlar, Şekil 2.2’de gösterildiği gibi veziko-üreteral reflü (VUR) (%15-20), üreterovezikal darlık (%5-10)’tır (17).

Antenatal hidronefroz, gebelikte gerçekleştirilen ultrasonografide % 1-5 ile en fazla rastlanan üriner sistem anomalisidir. Bu vakaların çoğunluğu üriner sistemdeki yavaş gelişimden kaynaklanmakla birlikte, genellikle anne karnında yada doğum sonrası evrede 1 yaşına gelene kadar kendiliğinden düzelmektedir. Hidronefrozun, erkeklerdeki insidansı, kızlara göre 2 kat, sol tarafta sağa göre görülme insidansı daha fazladır (18).

2.4.1. Antenatal Hidronefroz Sebepleri

Hidronefroz, üriner sistemde meydana gelen anomaliler için ipucu olmasına karşın, izole hidronefroz idrar yolunda tıkanıklık olmaksızın ya da başka ürolojik, renal patolojik bulgu gözlenmeden de ortaya çıkabilir (19). Hidronefroz tek taraflı veya bilateral olarak gözlenebilmektedir. Tek taraflı hidronefroz ÜPB darlığı, VUR ya da displazi kaynaklı olarak meydana gelebilmektedir. En sık gözlenen nedenleri, UP darlık ve geçici hidronefroz iken hemen ardından gözlenme sıklığı sıralamasında VUR gelmektedir (20). Bilateral hidronefrozun erkeklerde gözlenen insidansı en yüksek nedeni posterior üretral valv (PUV) iken kızlarda ektopik obstruktif üreteroseldir (21).

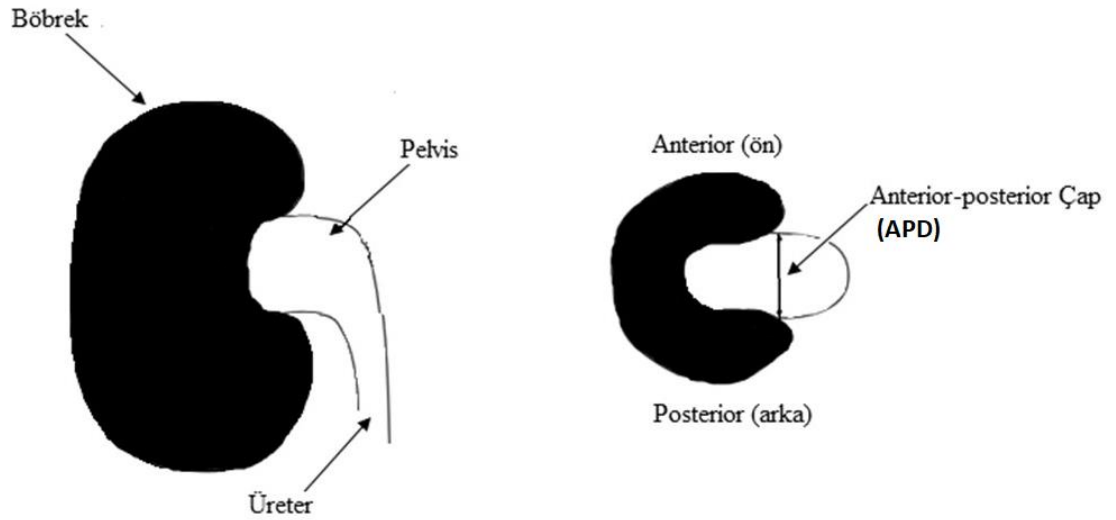
Hidronefroz gözlenen antenatallerden %14-21’inde, VUR veya üriner sistem üst ya da alt bölge obstrüksiyonları hidronefroza eşlik etmektedir (22). Bununla birlikte hidronefroz saptanan infantların büyük bir kısmında, izole antenatal hidronefrozun dışında ikincil anomaliye rastlanmamıştır. Antenatal evrede hidronefroza neden olan anomaliler ve sonografik incelemelerde gözlenen renal anomaliler Tablo 2.1’de gösterilmiştir (23).

Tablo 2.1: Antenatal evrede hidronefroz nedenleri

Geçici hidronefroz
Nononstrüktif hidronefroz
Pelviüreteral darlık
Veziko-üreteral reflü
Posterior üreteral valv
Veziko-üreteral darlık
Megaüreter
Multükistik displastik böbrek
Üretorosel
Ektopik üreter
Üreteral atrezi
Renal kistler
Irakal kistler

2.4.2. Hidronefrozun Evreleme Sistemi

Hidronefrozun sistematik bir şekilde evrenmesinde, hepsi ayrı özellikler ve sınır değerler içeren çok sayıda farklı gruplandırmalar uygulanmıştır. En fazla tercih edilen ve en basit yöntemlerden birisi olan ağır, orta ve hafif olarak evreleme sistemidir. Hidronefrozun derecesinin değerlendirilmesinde kullanılan sistem anteroposterior pelvis çapı (APD) ölçümüdür (Şekil 2.3). Çapın 15 mm ya da daha büyük ölçülmesi ağır (anlamli) hidronefroz olarak sınıflandırılırken, 4-5 mm normal değer için sınır olarak belirlenmiştir (24-30).



Şekil 2.3: Hidronefroz gözlenen böbrekte pelvis renalis ön arka çapının ölçümü (anteroposterior pelvis çapı; APD)

Fetal Üroloji Derneği (*society for fetal urology*; SFU) 1993'te doğum öncesi dönemde renal pelvis, kaliks ve parenkimin ölçülmesi açısından bir evreleme sistemi belirlemiştir (31). Sistem, evre 1 ile evre 4 arasında derecelendirilir. Evre1 yalnızca renal pelviste görünür bir fark olmasına karşın, iki alt gruba ayrılan evre 4'te hem renal pelvis hem de kalikslerde ciddi ölçüde dilatasyon ile parenkimde incelme gözlenir. Evre 4'ü alt gruplandırmaya ihtiyaç duyulmasının nedeni ise, segmental kaliksiyel incelme (4A) ve parenkimal incelme (4B) kaynaklıdır (32,33).

Evrelemede farklı bir sistem olan hidronefroz indeksi (HI) ise, renal yüzey ile renal pelvis / kaliks'in matematiksel olarak farkının renal yüzeye oranıdır. Yüzde şeklinde ifade edilir. HI, SFU'da belirtilen evre 3 ve 4 ile uygunluk göstermekle birlikte, hidronefroz derecesindeki değişim hassasiyeti SFU'ya göre daha yüksektir (34).

Maizels ve ark. (35) böyle hastalarda mortalitenin 12,9 kat arttığı göstermiştir. Başka bir araştırmada ise fetal idrar kesesinin sagittal ölçümünün, doğum sonrası renal işlev ve cerrahi müdahale riskini yükselttiği bildirilmiştir (36). Leung ve ark. (33) gestasyonun 20. ve 38. haftasında farklı bir HI hesaplamasını ($HI = APD / \text{üriner mesane hacmi}$) öneri olarak sunmuşlardır.

Mesanede dilatasyon ve hidronefroz, üretral darlıklarda izlenirken, kronik renal yetmezlik ve mortalite riskini artırmaktadır (37,38).

2.5. Üreteropelvik Bileşke (ÜPB) Darlığı

İdrar, renal pelviste başlayan ve üreter tabakasındaki düz kas hücreleri tarafından idrarın aldığı yol boyunca yayılan peristaltik bir süreçle, papilladan pelvise ve üreterlere taşınarak mesanede depolanmaktadır. Üreterin mesaneye düzgün bir şekilde gönderilememesi sonucunda ÜPB darlığı ortaya çıkmaktadır. ÜPB darlığının nedeninin, pelvis ve üreter düz kasındaki bir anomali kaynaklı, fonksiyonel bir obstrüksiyon olduğu düşünülmektedir (39).

ÜPB darlığının tedavisi, pyeloplasti adı verilen cerrahi bir yöntem ile obstrüksiyon gözlenen ÜPB bölümünün çıkarılarak üreterin sağlam olan pelvik dokuya birleştirilmesi ile idrarın renal pelvisten üretere geçiş yolundaki obstrüksiyonun ortadan kaldırılmasıdır (40). Laparoskopik ve robotik cerrahide meydana gelen gelişmeler doğrultusunda, pyeloplasti cerrahisinde de laparoskopik yöntemler denenmiş ve başarılı bulunmuştur (41-43). Günümüzde de tercih edilen laparoskopik pyeloplastinin avantajları, açılan kesinin klasik pyeloplastiye göre küçük olması ve dolayısıyla iyileşme ve hastanın normal hayatına dönme sürecinin daha hızlı gerçekleşmesi, cerrahi sonrası ağrının daha az olması şeklinde sıralanabilmektedir (44).

2.6. Hidronefroзда Rol Oynayan Hücre Ölüm Mekanizmaları

Antenatal hidronefrozu yeni doğanlarda dilatasyonun böbrek fonksiyonlarında ilerleyici ve kalıcı kayıplara neden olabildiği bilinmektedir. Hasarlı böbrekte nekroz, nekroptoz, otofaji ve apoptoz hücre ölüm çeşitleri iç-içe geçmiş şekilde ilerlemektedir (45). Yapılan çalışmalarda ÜPB obstrüksiyonunda renal hücrelerde gerçekleşen hücre ölümünün apoptotik mekanizmaların yanında nekrotik mekanizmalarla da ilerlediği bildirilmiştir (46).

2.6.1. Apoptoz

Programlanmış hücre ölümünün ana tiplerinden olan apoptoz, homeostazi korumak adına gerçekleşen, hücrenin kendisini yok ettiği bir süreçtir. Genlerle düzenlenen bu sürecin gerçekleşmesi için protein sentezi ve enerjiye ihtiyaç duyulmaktadır. Apoptoz, intrinsik ve ekstrinsik olarak adlandırılan iki farklı yolak ile gerçekleşebilmektedir. Hücre içi iyon dengesinin bozulması, hipoksi ve DNA hasarı gibi hücre içi sinyallerin etkisi ile intrinsik, büyüme ve üreme faktörlerindeki eksiklik

ve ölüm reseptörlerinin aktivasyonu gibi hücre dışı sinyallerin etkisi ile de ekstrinsik yol tetiklenerek apoptoz gerçekleşmektedir (47).

Hücrel apoptoz, çeşitli morfolojik ve biyokimyasal değişimler ile ayırt edilebilmektedir. Apoptotik hücre, hücre hacminde azalma, plazma membranında girinti ve çıkıntılar meydana gelmesi, nükleer kondansasyon, DNA'nın nükleozomal fragmentasyonu ve apoptotik cisimciklerin oluşumuyla karakterizedir. Tüm bu değişimler hücrel sinyallerin apoptoz mekanizmasında görev alan proteinlerin ve kaspaz kaskadının sistematik fonksiyonu ile gerçekleşmektedir. Organizmada homeostazın düzenlenmesinde kilit rol üstlenen apoptoz regülasyonunda bir kusurun meydana gelmesi kanser, nörodejeneratif hastalıklar, AIDS ve otoimmün bozukluklar da dahil olmak üzere bir çok hastalıkta apoptozun, birincil veya ikincil rol oynamasına neden olmaktadır (48-51).

2.6.2. Nekroz

Nekroz, apoptozun aksine genler tarafından kontrol edilmeyen, rastgele gelişen ve ATP'ye ihtiyaç duymayan bir hücre ölüm tipidir (47). Nekrotik hücre ölümü, karyoliz ve hücre zarının parçalanması sürecini takip etmektedir (52). Nekroz hipoksi, toksik maddeler ve ağır metallerin yanı sıra, şiddetli hücre içi ATP yoksunluğunda da tetiklenebilmektedir (47,52). ATP düzeylerinin düşüklüğünde, apoptotik tetikleyicilere maruz kalan insan T hücrelerinin apoptozdan nekrotik hücre ölümüne geçtiği bildirilmiştir (53).

Hücrenin ATP üretimini sürdürmek için anaerobik glikoliz gerçekleştirmesi, hücre içinde laktik asit birikimine ve pH seviyelerinde düşmeye neden olmaktadır. Hücre, Na^+/H^+ antiportunu aktive ederek pH düşmesine karşı koyar ve bu durum hücre içi Na^+ seviyelerinin artması ile sonuçlanır. ATP yetersizliğinde Na^+/K^+ ATPaz kullanılmadığından, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ antiportu tersine çevrilir ve mitokondride aşırı Ca^{2+} birikir. Hücre içi Ca^{2+} artışı, NADH artışına sebep olarak reaktif oksijen türleri (ROS) oluşumunu indükler. Bu durum sırasıyla mitokondriyal porların açılması, organellerin şişmesi, osmotik basınç artışı ve hücre parçalanması ile sonlanır (47,54,55).

2.7. Kaspazlar

Apoptotik ölüm mekanizmasında kilit roller üstlenen kaspazlar sistein proteaz ailesinin üyesidirler. Kaspazlar, substratlarının aspartik asit (ASP) bölgelerindeki

karboksil gruplarının peptit bağlarını kesen nukleofilik alana sahiptirler. Zimogen pro-enzimler şeklinde sentezlenen kaspazların fonksiyonel hale gelebilmeleri için proteolitik kesime uğramaları gerekir. Kaspazlar iç bölgelerindeki ASP bölgelerinden kendi kendilerine ya da diğer kaspazlar vasıtasıyla aktive edilmektedirler (48,56).

Kaspazlar, apoptoz ve enflamasyonda rol oynayan kaspazlar olarak iki sınıfa ayrılmaktadır (57). Apoptoz ile ilişkili kaspazlar kendi içlerinde de başlatıcı kaspazlar ve efektör kaspazlar olmak üzere iki grupta incelenmektedir (Tablo 2.2).

Tablo 2.2: Kaspazların sınıflandırılması.

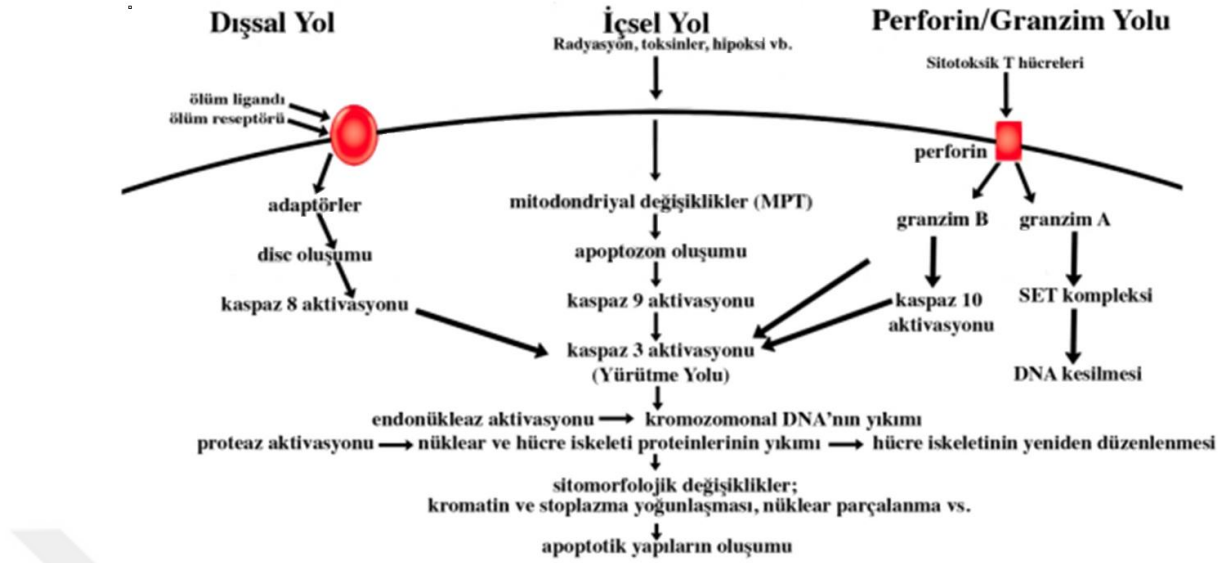
Apoptozda Rol Oynayan Kaspazlar	
Başlatıcı Kaspazlar	Kaspaz-II
	Kaspaz-VIII
	Kaspaz-IX
	Kaspaz-X
Efektör Kaspazlar	Kaspaz-III
	Kaspaz-VI
	Kaspaz-VII
Enflamasyonda Rol Oynayan Kaspazlar	
	Kaspaz-I
	Kaspaz-IV
	Kaspaz-V
	Kaspaz-XI
	Kaspaz-XII
	Kaspaz-XIII
	Kaspaz-XIV

Kaspaz aktivasyon mekanizması üç ana yolak üzerinden gerçekleşebilmektedir (Şekil 2.4). Bunların ilki olan mitokondrial (intrinsik, içsel) yolda, hücrel stres kaynaklı olarak mitokondrial membrandan sitozole sitokrom-c salınımı gerçekleşmektedir. Sitozole salınan sitokrom-c ile Apaf-1, ATP ve pro-kaspaz 9

birleşerek apoptozom adı verilen yapıyı meydana getirmektedir. Apoptozom oluşumu ile pro-kaspaz 9'un aktivasyonu gerçekleşir. Aktifleşen kaspaz 9 sonrasında, kaspaz 3 ve kaspaz 7'yi aktive etmektedir. Kaspaz 3, kaspaz 2 ve kaspaz 6'yı aktive ederken geri besleme ile de kaspaz 9'ların aktivasyonunu gerçekleştirmektedir. Kaspaz 9'un apoptozom ile aktiflenmesi ölüm sinyalinin rastgele amplifikasyonuna sebep olmaktadır (56).

Kaspaz aktivasyon mekanizmasındaki ikinci yol, ekstrinsik (Dışsal) yol olarak adlandırılmakta ve ölüm reseptörlerinin ligasyonu üzerinden gerçekleşmektedir. DR4, DR5, DR6, FAS, ve TNF- α reseptörlerini içeren ölüm reseptörlerinde, sitozole doğru uzanan ve ölüm alanı (*death effector domain*; DED) adı verilen bir bölge bulunmaktadır. Benzer şekilde efektör kaspazlar hariç, tüm kaspazlar, uzun prodomenlerinde, DED veya kaspaz alım alanı (*caspase recruitment domain*; CARD) barındırmaktadır. Ölüm alanı aile üyeleri olan DED ve CARD, protein-protein etkileşimi yolu ile prokaspaz aktivasyonu ve aşağı akış kaspaz kaskadının düzenlenmesinde görev almaktadır. Ölüm reseptörlerinin apoptotic sinyal varlığında ortaya çıkan DED'leri ile prokaspaz-8'in bileşimindeki DED'ler ile etkileşime girer prokaspaz-8 oligomerizasyonu indüklenir. Bağlanma ile DISC oluşarak, prokaspaz-8'in aktivasyonu gerçekleşir. Aktive edilen kaspaz-8 doğrudan veya dolaylı yolla kaspaz-3'ün aktivasyonunu gerçekleştirir. Kaspaz 8'in doğrudan kaspaz 3'ü aktive ettiği yolda, aktivasyonu gerçekleşen Kaspaz 3 ya direkt olarak, kaspaz 9'u veya kaspaz 2 ve kaspaz 6'yı aktive edebilmektedir. Dolaylı yol ise Bid proteinini terminal ucundan keserek tBid oluşumuna neden olduğu yolaktır. Gerçekleşen kesim ile meydana gelen oligomerizasyon, mitokondriyal zar geçirgenliğini değiştirerek sitozole sitokrom-c salımına neden olur. Sitokrom-c salınımı kaspazların intrinsik yolağını aktive etmektedir. Daha sonra, mitokondriyal yol üzerinden kaspaz-9'u aktive etmesi ile gerçekleşir. (48,56,57).

Kaspaz aktivasyon mekanizmasındaki son yolak ise granzim B teşvikli yolaktır. Granzim B, aspartik asit alanlarını kesen bir serin proteazdır. Granzim B'nin ana substratı kaspaz 8 ve kaspaz 3'tür (56).



Şekil 2.4: Kaspazların aktivasyon yolları

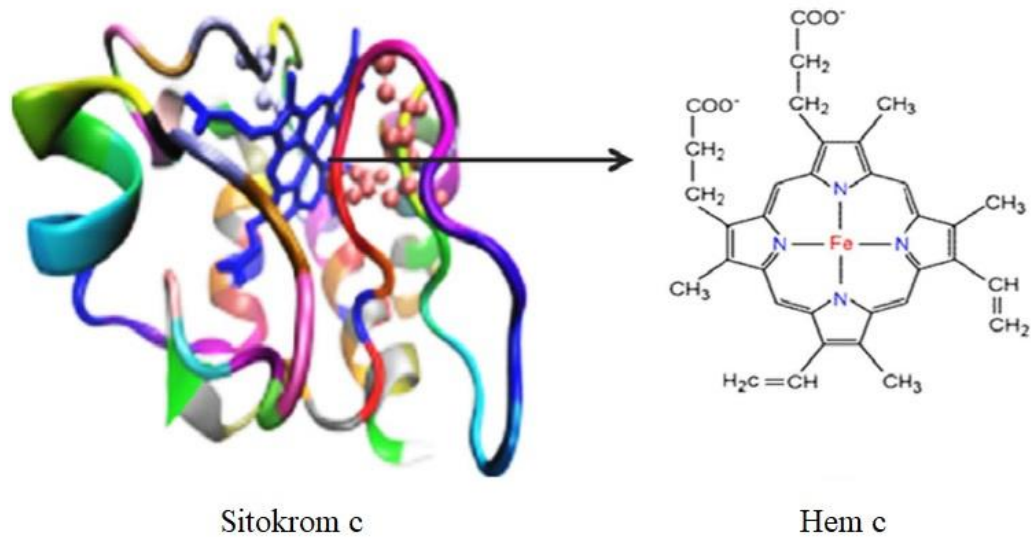
2.8. Prenatal Tanılı Unilateral Hidronefroзда Potansiyel İdrar Belirleyicileri

Diğer yöntemlerin invazivliği ve riskleri düşünüldüğünde, non-invaziv tetkikler yoluyla hidronefrozun öngörülebilmesi oldukça önemlidir. Üriner sistem obstrüksiyonunu non-invazif olarak inceleyebilmek adına çok sayıda biyobelirteç üzerinde çalışılmaktadır (58-60). Deney hayvanlarında obstrüksiyon oluşturularak yapılan çalışmalarda, böbrek parankiminde inflamasyon, oksidatif stres, hücre yapım ve yıkım dengesinin bozulması, apoptoz, fibroblast infiltrasyonu ile transformasyonu ve interstisyel fibrozisin meydana geldiği ileri sürülmüştür (58). Tam veya parsiyel ÜPB deneysel modellerinde, hücreleri çeşitli apoptotik streslerden korumak için bir antiapoptotik faktör görevi gören ısı şok proteini 70 (HSP70) ve Bcl2'nin aşağı regüle olduğu ve dolayısıyla Bax/Bcl oranında ve Kaspaz-3 aktivitesinde artış meydana geldiği gösterilmiştir (61,62). Bu durum, kaspaz-3 ve sitokrom c gibi atılımı idrarla gerçekleşen ve apoptoz mekanizmasında görevli ara moleküllerin obstrüksiyonun saptanmasında potansiyel birer biyobelirteç olup olamayacakları sorusunu akıllara getirmektedir.

2.8.1. Sitokrom c

Sitokromlar, genel olarak mitokondri iç zarına bağlı bulunan, prostetik grup olarak hem içeren ve hayvanların, bitkilerin ve mikroorganizmaların hücrelerinde temel biyolojik fonksiyonu ETS’de elektron taşınması olan proteinlerdir. Hem grubunun demir içeriği nedeniyle görünür ışıktaki karakteristik absorpsiyon spektrumları gösterirler. Bu özellikleri sayesinde mitokondride, ışık absorpsiyon spektrumu farkları ile ayırt edilerek a, b ve c şeklinde sınıflandırılmış üç tip sitokrom tanımlanmıştır. Demir, indirgenmiş (Fe^{+2}) ve oksitlenmiş (Fe^{+3}) halde bulunarak elektron alışverişini sağlar. (63).

Sitokrom c testis ve somatik hücrelere spesifik olmak üzere iki farklı izoforma sahiptir. Somatik hücrelerden elde edilen 13 kDa ağırlığındaki sitokrom c, CYCS (*cytochrome c, somatic*) geni tarafından kodlanır (Şekil 2.5) (64).

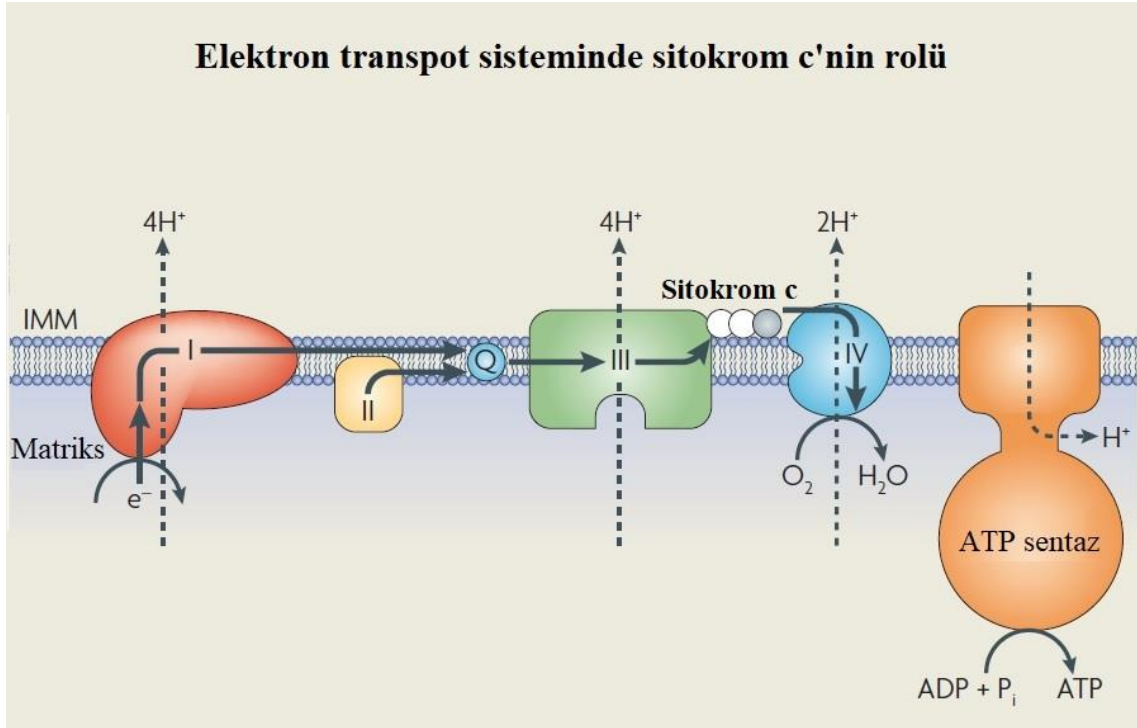


Şekil 2.5: Sitokrom c'nin üç boyutlu yapısı ve yapısındaki Hem c grubu (65)

Elektron transport zinciri (ETZ), mitokondri iç zarında yer alan dört protein kompleksi (kompleks I-IV) ile iki mobil taşıyıcıdan (koenzim Q ve sitokrom c) oluşan

bir sistemdir. Sitokrom c, iç ve dış mitokondri membranlar arası boşlukta ve kompleks II ile IV arasında gevşek bir şekilde konumlanmıştır. ETZ'de elektronlar kompleks I veya II'den son alıcı olan oksijene aktarılırken mitokondri matriksinden membranlar arası boşluğa proton pompalanmaktadır (66). Daha sonra bu protonlar ATP sentaz yapısındaki bir proton kanalı aracılığı ile mitokondri matriksine geri dönerken, ATP sentaz kompleksindeki bir konformasyon değişikliği ATP sentezlenmesine yol açar (64). Sitokrom c, bu süreçte kompleks III'ten elektronları alarak kompleks IV'e (sitokrom oksidaz) iletmekle görevlidir (Şekil 2.6). Sitokrom c'nin, oksidatif fosforilasyondaki bu önemli görevinin yanında, mitokondriden sitoplazmaya salınımı ile apoptozda da önemli roller üstlendiği keşfedilmiştir. Hücre ölümü ne kadar fazla ise Sitokrom c konsantrasyonlarının hücre ölümü ile doğru orantılı arttığı gösterilmiştir (67).

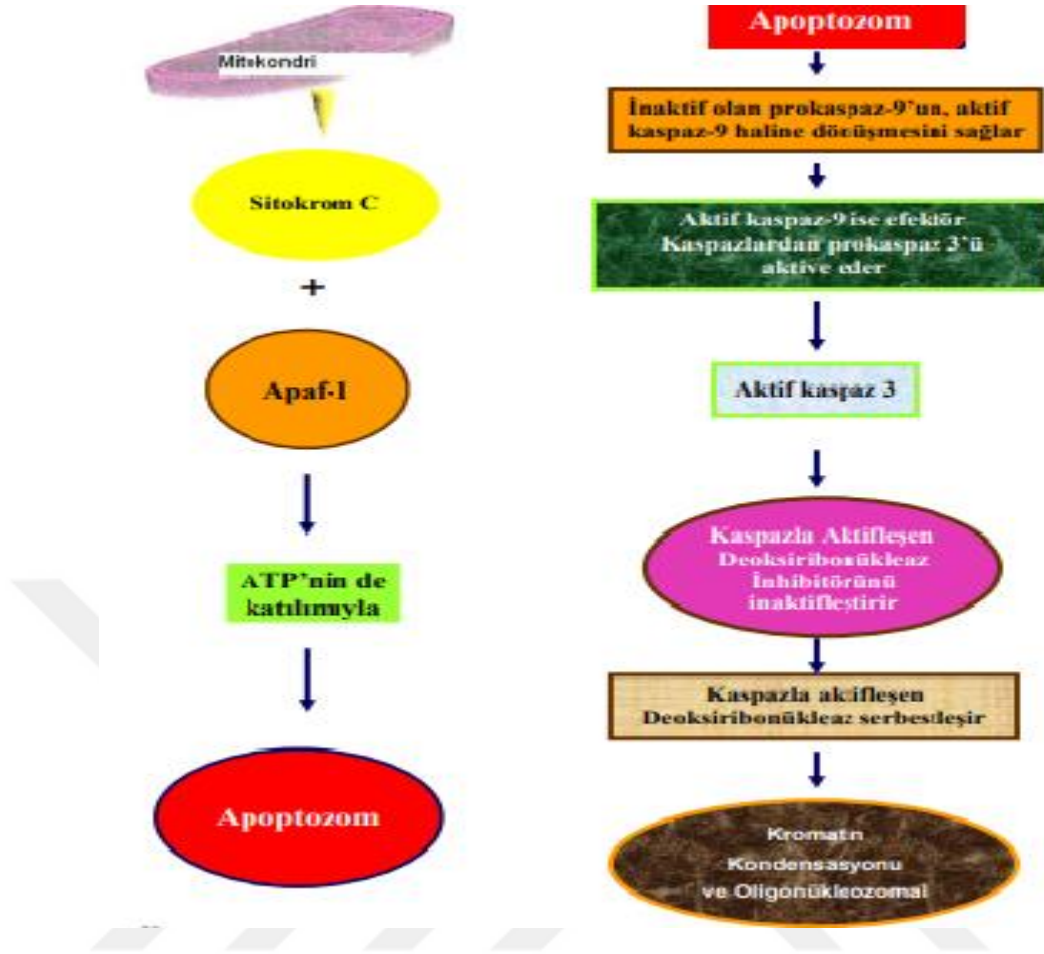
ETZ'e giren oksijenin bir kısmının süperoksit anyonuna dönüştüğü başka bir deyişle, ROS oluşumuna neden olduğu bilinmektedir (67). Hücrede ROS ve ATP arasındaki denge ROS yönüne kaydığında hücre işlevi ve yaşayabilirliği için büyük engeller ortaya çıkaran stres sinyalleri oluşmaktadır. Bu stres sinyallerinin de endojen (mitokondriyal) tip II apoptoz yoluyla programlanmış hücre ölüm sürecinin tetiklenmesine neden olduğu belirtilmektedir (68).



Şekil 2.6: Elektron transport sisteminde sitokrom c'nin rolü (64)

Apoptozun regülasyonu 20 üyesi tanımlanmış olan BCl-2/Bax gen ailesiyle sağlanmaktadır. Bax apoptozu uyarırken, BCl ailesi apoptozu baskılamaktadır. BCl-2/Bax oranı apoptozun yönünü belirler. Apoptotik sinyal ile Bax proteinleri mitokondri zarının permeabilite geçiş poruna bağlanarak, zar geçirgenliğinde değişime neden olur.

Böylece Sitokrom c ve Apoptoz indükleyici faktör (AIF) gibi faktörler sitoplazmaya geçerler. Apoptotik proteaz aktive eden faktör (Apaf-1)'in aktivatörü olan Sitokrom c, bir dizi kaspaz aktivasyonunu başlatan Prokaspaz-9'u aktive eder. Bu seri kaspaz aktivasyonu ile proteolizin uyarıcılarından olan Kaspaz-3 de aktiflenir. Kaspaz-3, hücre ölümüne yol açan bir dizi geri dönüşümsüz olayı başlatır (69, 70). (Şekil 2.7).

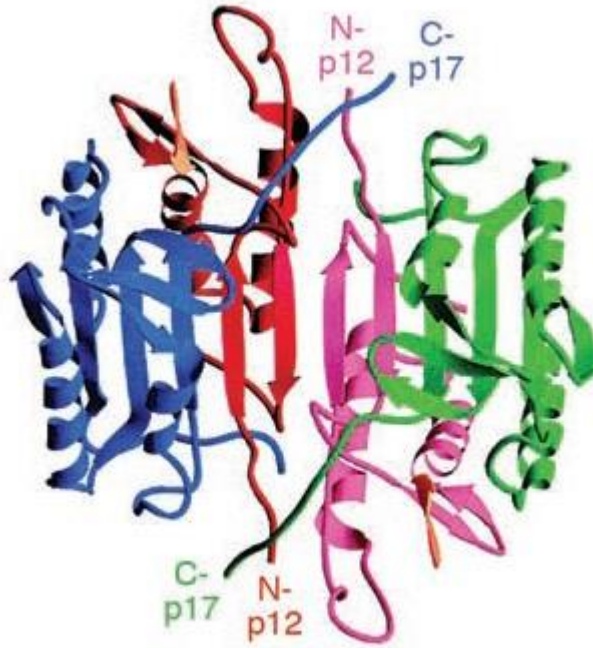


Şekil 2.7: Sitokrom c nin kaspaz aktivasyonu

2.8.2. Kaspaz-3

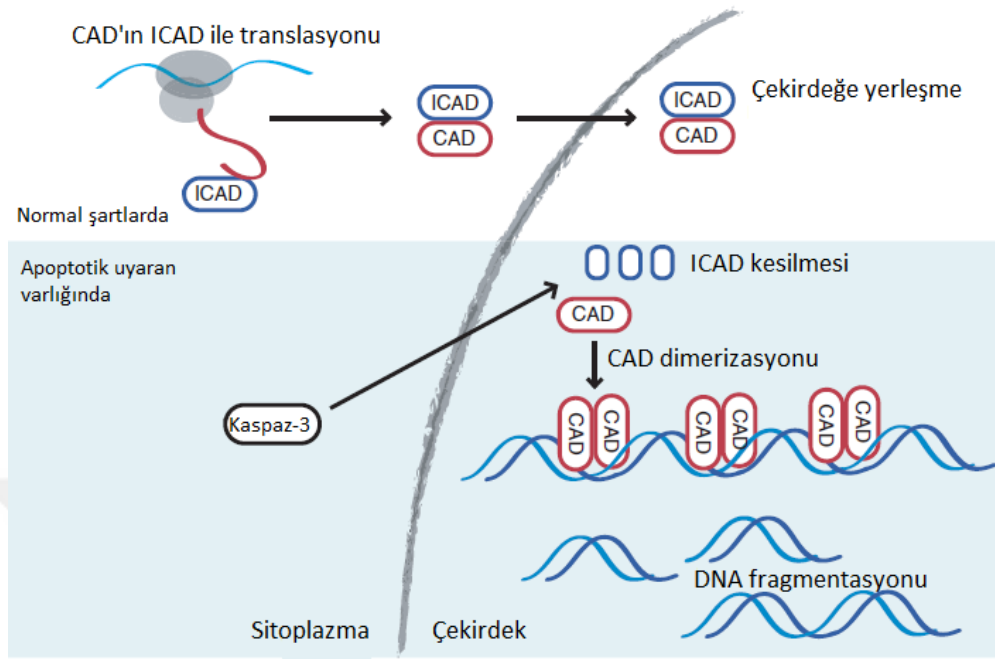
Sağlıklı hücrelerde kaspazlar, N-terminalinde farklı uzunluklarda bir prodomen (Şekil 2.8), büyük ve küçük alt birimden oluşan inaktif öncüller (prokaspaz) şeklinde bulunurlar (71). Farklı kaspazların prodomenlerinde özgül protein-protein etkileşim alanlarına sahip olmaları farklı adaptörlerle kompleks oluşturmalarına olanak tanımaktadır. Kaspaz-3 apoptoz sürecinde rol oynayan sistein proteazlar ailesine ait bir proteindir (71). Kaspaz-3, 17 kDa (p17) ve 12 kDa (p12) alt birimlere sahip, 32 kDa'luk zimojenden meydana gelmektedir. Prokaspaz-3 aktifleştikten sonra yapısındaki p17'den dört tane ve p12'den iki tane olmak üzere 6 anti-paralel β -tabakası heterodimer oluşturma amacıyla bir araya gelir. Böylece iki heterodimer kaspazlara özgü α -sarmallarla çevrildiği 12 iplikli β -tabakası oluşmuş olur. Kaspaz-3 zincirindeki 163.

sisteinin (Cys-163) sülfhidril grubu ve 121. histidinin (His-121) imidazol halkası proteinin katalitik alanlarını oluşturmaktadır. His-121, kilit noktadaki aspartat kalıntısının karbonil grubunun stabilizasyonunu sağlarken, Cys-163, peptit bağı parçalama görevi görür (72).



Şekil 2.8: Kaspaz-3'ün yapısı (71)

Kaspaz-3 apoptotik hücrelerde hem kaspaz-9 vasıtasıyla intrinsik yolda hem de kaspaz-8 vasıtasıyla ekstrinsik yolda aktive edilir (72). Apoptoz mekanizmasının kromatin yoğunlaşması ve oligonükleozomal DNA fragmentasyonundan kaspaz-3 sorumludur (73). Kaspaz-3, DNA fragmentasyonunu desteklemek için kaspazla aktiflenmiş DNaz inhibitörünün (ICAD) proteolitik inaktivasyonu ile kaspaz aktive edici DNaz'ı (CAD) aktive ederek bir dizi geri dönüşümsüz olayı tetiklemektedir (Şekil 2.9). Apoptozda gözlenen CAD'ın nükleaz aktivitesinin gerçekleşebilmesi için dimerizasyona uğraması gerekmektedir. Ancak CAD'ın dimerizasyonu ICAD tarafından engellenmektedir. Kaspaz 3, iki aspartik asit kalıntısını, D117 ve D224'ü parçalayarak ICAD'yi etkisiz hale getirir, CAD ile etkileşimini destabilize ederek CAD dimerizasyonuna ve ardından DNA parçalanmasına izin verir (74).



Şekil 2.9: CAD mekanizması (74)

Kaspaz-3'ün ÜPB obstrüksiyonu, tip 2 diabetes mellitus ve Alzheimer gibi birçok dejeneratif hastalıkta rol oynayabileceği düşünülmektedir. Bu tür hastalıklarla olan ilişkileri, kaspazları tanı ve tedavi sürecinde kullanılmak üzere ilgi çekici hedefler haline getirmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta seçimi

Çalışmamızda, prenatal takibi bulunan ve postnatal dönemde obstrüksiyonu klinik olarak ortaya konan, tek taraflı hidronefrozu olan ve Anderson Hynes metodu ile pyeloplasti uygulanan (pyeloplasti grubu) 33 hastadan toplam 66 (ameliyat öncesinde ve sonrasında birer kez olmak üzere) idrar örneği alınmıştır. İki farklı kontrol grubu planlanmış olup; birinci grupta klinik takibinde obstrüksiyon gerçekleşmeyen (cerrahi gerekmeyen), yalnızca hidronefrozu olan 32 hastadan oluşan NOD grubu yer almıştır. İkinci kontrol grubuna ise İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Ürolojisi polikliniğine başvuran, cinsiyetleri ve yaşları çalışma grubu ile uyumlu olarak seçilmiş 34 sağlıklı çocuk (kontrol grubu) dahil edilmiştir. Bu grup, ailelerinden alınan anamnez ve ögeçmişlerinin incelenmesi sonucunda patoloji saptanmayan, akut ve kronik bir hastalığı olmayan, idrar sedimentinde piyüri saptanmayan, üriner sistem ultrasonografisinde hidronefrozu bulunmayan ve biyokimyasal incelemeleri normal saptanan sağlıklı çocuklardan oluşturulmuştur.

3.2. Yöntem

Çalışmamızda tüm deneyler İ. Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nın araştırma laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

3.2.1. İdrar Örneklerinin Elde Edilmesi

Çalışma grubu olarak kullanılmış olan idrar örnekleri, İstanbul Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı Çocuk Ürolojisi Bilim Dalı'nda, ÜPB obstrüksiyonu tanısı almış ve ailesi çalışma hakkında detaylı bir şekilde bilgilendirilerek rızaları alınmış olan gönüllülerden temin edilmiştir. Benzer şekilde kontrol grubu olarak kullanılan idrar örnekleri, ailesi çalışma hakkında detaylı bir şekilde bilgilendirilerek rızası alınmış olan sağlıklı çocuklardan alınmıştır. İdrar örnekleri 3000 rpm'de +4 °C'de 5 dakika santrifüj edilmelerinin akabinde porsiyonlara ayrılarak çalışma gününe kadar -80 °C'de saklanmıştır.

3.2.2. İdrar Örneklerinde Belirleyici Düzeylerinin Ölçümü

Gerçekleştirilmiş olan tüm çalışmalardan önce çalışmanın denemeleri yapılarak yöntemlerin optimizasyonu sağlanmıştır. Tüm örneklerin eş-zamanlı çalışılması ile ortam şartlarından kaynaklanabilecek değişimler en aza indirilmiştir.

3.2.2.1. İdrar Kaspaz-3 Düzeyinin Ölçülmesi

İdrar örneklerinde kaspaz-3 düzeyleri ELISA prensibine dayanan ticari bir kit (*Human Caspase-3 ELISA Kit Cat No. MBS260710*) ile ölçülmüştür. İdrar örnekleri cihazın okuma aralığına çekilmesi amacıyla 1:1 oranında seyreltilmiştir. Sonuçlar, idrar örneklerinden Jaffe reaksiyon yöntemi ile spektrofotometrik olarak ölçülmüş olan kreatinin düzeylerine oranlanarak verilmiştir.

3.2.2.2. İdrar Sitokrom c Düzeyinin Ölçülmesi

İdrar örneklerinde sitokrom c düzeyleri ELISA prensibine dayanan ticari bir kit (*Human Cytochrome C(Cyt-C) ELISA Kit Cat No. MBS266489*) ile ölçülmüştür. İdrar örnekleri seyreltilmeden direkt olarak kullanılmıştır. Sonuçlar, idrar örneklerinden Jaffe reaksiyon yöntemi ile spektrofotometrik olarak ölçülmüş olan kreatinin düzeylerine oranlanarak verilmiştir.

3.3. Gereçler

1. Hassas terazi (Scaltec, Germany)
2. Manyetik karıştırıcı (IKA Labortechnik RH Basic, USA)
3. Otomatik pipet (Eppendorf, USA)
4. Mikrotüp santrifüjü (Hettich, Germany)
5. Mikrosantrifüj tüpü (Labosel)
6. Spektrofotometre (Pharmaco Biotech, UK)
7. PHmetre (Hanna Instruments, Portugal)
8. Vorteks karıştırıcı (IKA Work Inc. Minishaker, USA)
9. Bidistile su cihazı (Millipore, USA)
10. Santrifüj cihazı (Heraeus, Germany)
11. Yatay karıştırıcı (IKA-Werke, USA)
12. ELISA plak yıkama sistemi (ESW 300 Medispec, USA)
13. ELISA plak okuyucu (Biotech, UK)

14. Etüv (Nüve FN400, TR)

3.4. İstatistikler

Verilerin analizinde SPSS (21.versiyon) bilgisayar programı kullanılmıştır (SPSS, Chicago, IL). Farklı biyobelirteçlerin değerlerinin, medyan olarak tanımlanması planlanmış olup, grup dağılımları Levene's testi kullanılarak değerlendirilmiş ve dağılımları homojen olan parametreler için tek yönlü ANOVA (post-hoc Tukey HSD), homojen olmayan parametreler için ise Kruskal-Wallis (post hoc Mann-Whitney U) testinden yararlanılmıştır. Operasyon öncesi ve sonrası biyobelirteç düzeylerinin karşılaştırılmasında Wilcoxon Matched Pairs Signed Rank testinden yararlanılmıştır.

Pyeloplasti gerekliliğini ayırt etmek amacıyla, maksimum duyarlılık ve seçicilik hesaplanması için ROC eğrisi, değişkenler arası korelasyon için ise Spearman korelasyon analizi yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Pyeloplasti, NOD ve kontrol gruplarına ait demografik ve klinik veriler

Pyeloplasti, NOD ve kontrol gruplarının cinsiyet verileri ki kare (x2) testi, yaş, DRF, inceleme anında ölçülen APD değerleri Mann Whitney-U testi kullanılarak karşılaştırıldı.

Pyeloplasti grubundaki erkeklerin oranı % 84,8, kızlarınki ise % 15,2 iken, NOD grubunda bu oran sırasıyla % 84,4 ve % 15,6, kontrol grubunda %64,7 ve % 35,3 olarak saptandı. Preoperatif grupta DRF oranı NOD grubuna kıyasla anlamlı oranda ($p=0,001$) düşük bulundu; inceleme anında ölçülen APD değerlerinin ise anlamlı olarak yüksek ($p=0,000$) olduğu gözlemlendi. Pyeloplasti, NOD ve kontrol gruplarına ait demografik veriler Tablo 4.1’de gösterildi. Obstrüktif ve NOD gruplarında APD ve DRF arasında negatif korelasyon bulundu.

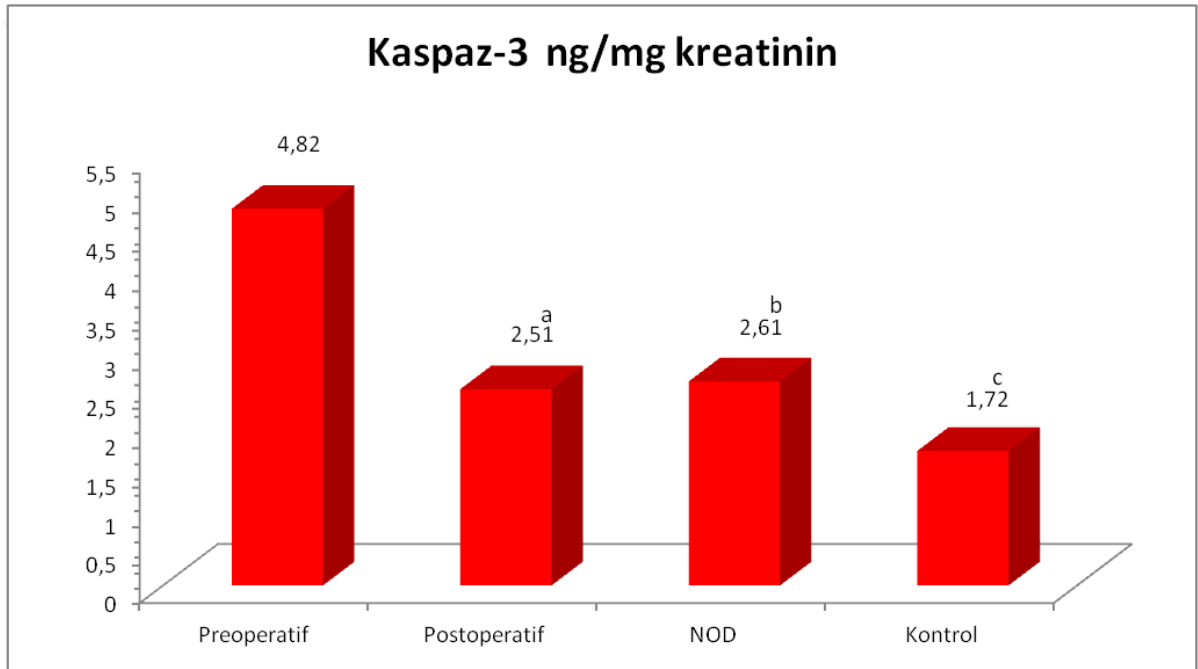
Tablo 4.1: Pyeloplasti, nonobstrüktif dilatasyon (NOD) ve kontrol gruplarına ait demografik ve klinik veriler (DRF: diferansiyel fonksiyon; APD: anteroposterior pelvis çapı)

	Pyeloplasti grubu		NOD	Kontrol	p
	Preoperatif	Postoperatif			
Cinsiyet n, (erkek/kız)	33 (28/5)	33 (28/5)	32 (27/5)	34 (22/12)	0,077
İnceleme anındaki yaş (ay)	26,92± 24,31	49,41 ± 28,47	44,09 ± 35,22	37,11 ± 20,89	0,000
DRF (%)	38,36 ± 9,12	42,65 ± 8,42	46,87 ± 2,75	-	0,001
APD (mm)	32,41 ± 11,44	22,38 ± 10,30	16,4 ± 6,04	-	0,000

4.2. Pyeloplasti, NOD ve kontrol gruplarındaki belirleyici düzeyleri

4.2.1. Pyeloplasti, NOD ve kontrol gruplarında idrar kaspaz-3 düzeyleri

Pyeloplasti (preoperatif ve postoperatif), NOD ve kontrol gruplarındaki idrar kaspaz-3 düzeyleri Mann Whitney-U testi kullanılarak karşılaştırıldı. Preoperatif gruptaki idrar kaspaz-3 düzeylerinin postoperatif gruba, NOD ve kontrol gruplarına göre anlamlı bir şekilde yüksek olduğu saptandı (sırasıyla $p=0,006$; $p=0,013$ ve $p=0,002$; Şekil 4.1).



Şekil 4.1: Preoperatif, postoperatif, nonobstrüktif dilatasyon (NOD) ve kontrol gruplarında idrar kaspaz-3 değerleri (median)

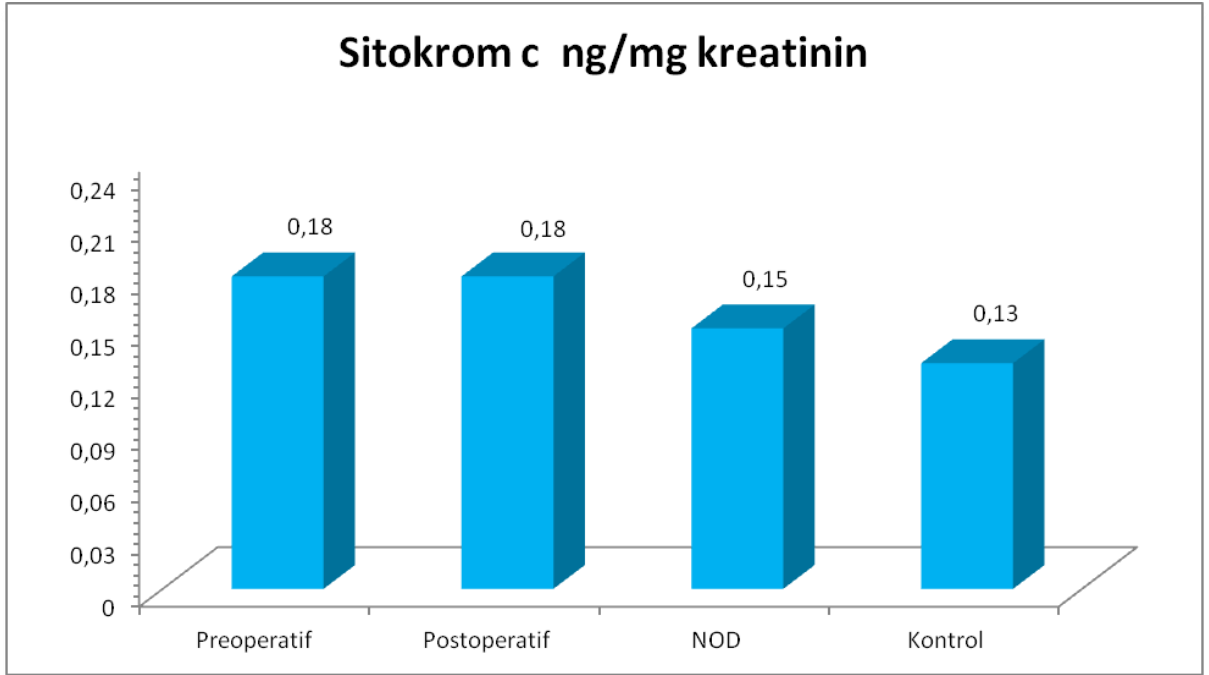
^ap: Preoperatif grup ile postoperatif grubu karşılaştırıldığında ($p= 0,006$)

^bp: Preoperatif grup ile NOD grubu karşılaştırıldığında ($p= 0,013$)

^cp: Preoperatif grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında ($p=0,002$)

4.2.2. Pyeloplasti, NOD ve kontrol gruplarında idrar Sitokrom c düzeyleri

Pyeloplasti (preoperatif ve postoperatif), NOD ve kontrol gruplarındaki idrar sitokrom c düzeyleri Mann Whitney-U testi kullanılarak karşılaştırıldı. Preoperatif grup ile postoperatif, NOD ve kontrol grupları arasında anlamlılık saptanmadı (Şekil 4.2).



Şekil 4.2: Preoperatif, postoperatif, nonobstrüktif dilatasyon (NOD) ve kontrol gruplarında idrar sitokrom c değerleri (median)

4.3. Pyeloplasti grubunda preoperatif ve postoperatif uzun dönem idrar kaspaz 3 ve sitokrom c düzeyleri

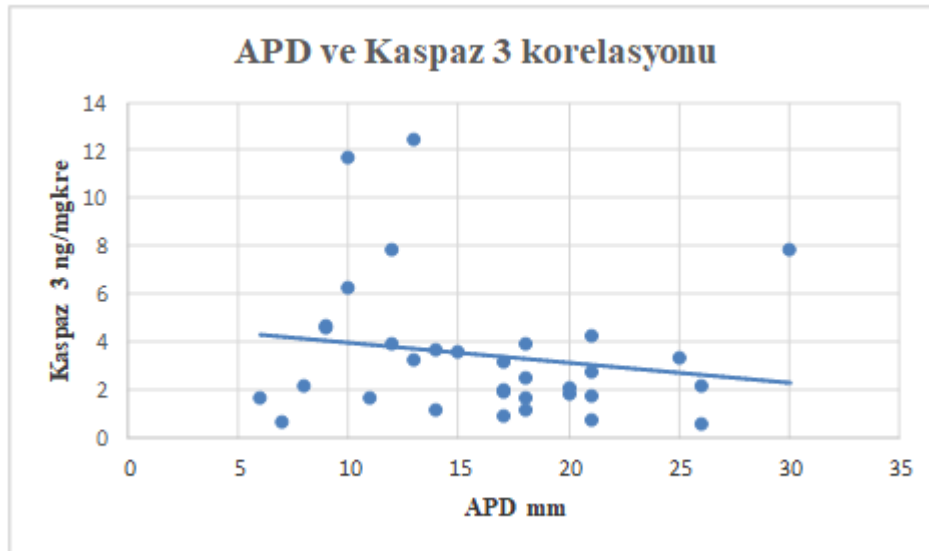
Pyeloplasti grubunda preoperatif alınan idrarlar ile postoperatif alınan idrarlardaki belirleyici düzeyleri Wilcoxon testi kullanılarak karşılaştırıldığında, idrar kaspaz 3 düzeylerinde bir azalma saptandı ($p=0,005$). Sitokrom c düzeylerinde ise anlamlı bir farklılık saptanmadı (Tablo 4.2).

Tablo 4.2: Pyeloplasti grubunda preoperatif ve postoperatif belirleyici düzeyleri

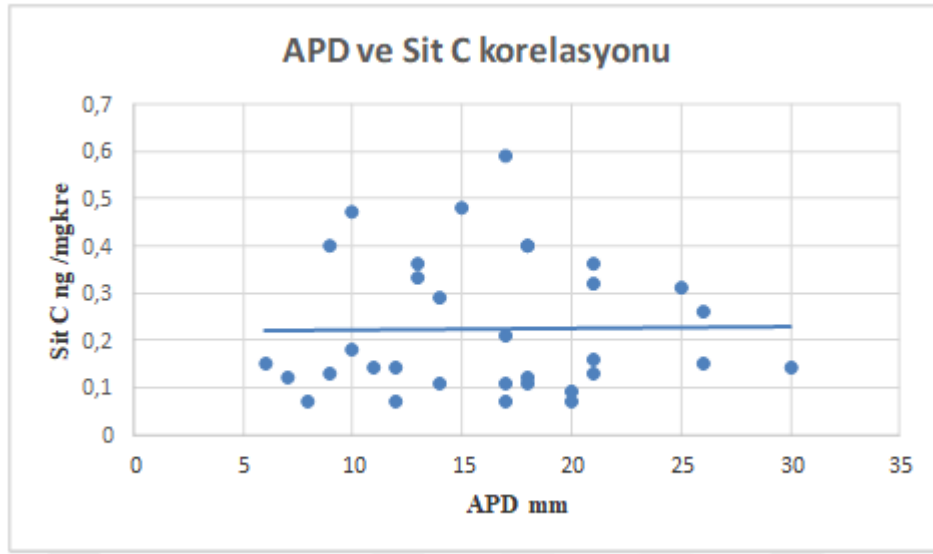
	Kaspaz 3 (ng/mg kreatin) Median (min-max)	Sitokrom c (ng/mg kreatinin) Median (min-max)
Peroperatif	4,82 (0,18-33,64)	0,18 (0,06-1,85)
Postoperatif	2,51 (0,46-13,90)	0,18 (0,05-1,16)
p değeri	0,005	0,604
z değeri	-2,814	-0,518

4.4. NOD grubunda idrar belirleyicileri, APD, DRF arasında korelasyon düzeyleri

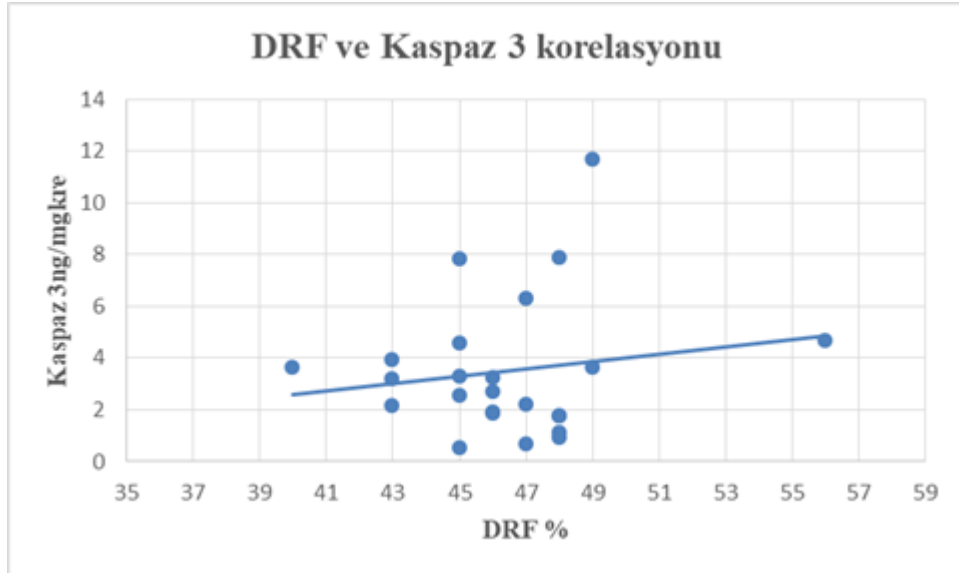
NOD grubunda Spearman korelasyon testi ile gerçekleştirilen analizde, idrar belirleyicileri ile APD ve DRF yüzdesi arasında bir korelasyon bulunmadı (Şekil 4.3-6).



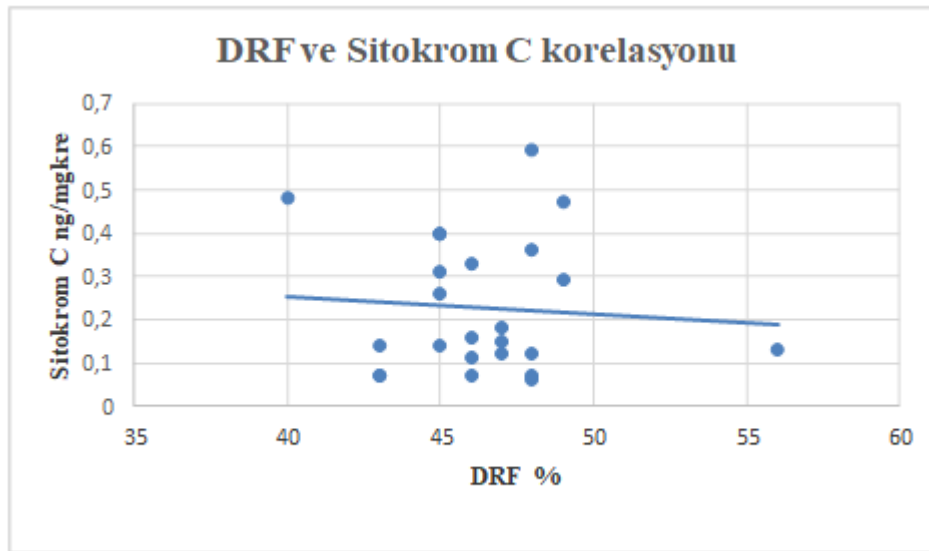
Şekil 4.3: Nonobstrüktif dilatasyon (NOD) grubunda anteroposterior pelvis çapı (APD) ile kaspaz 3 arasındaki korelasyon düzeyleri



Şekil 4.4: Nonobstrüktif dilatasyon (NOD) grubunda anteroposterior pelvis çapı (APD) ile sitokrom c arasındaki korelasyon düzeyleri



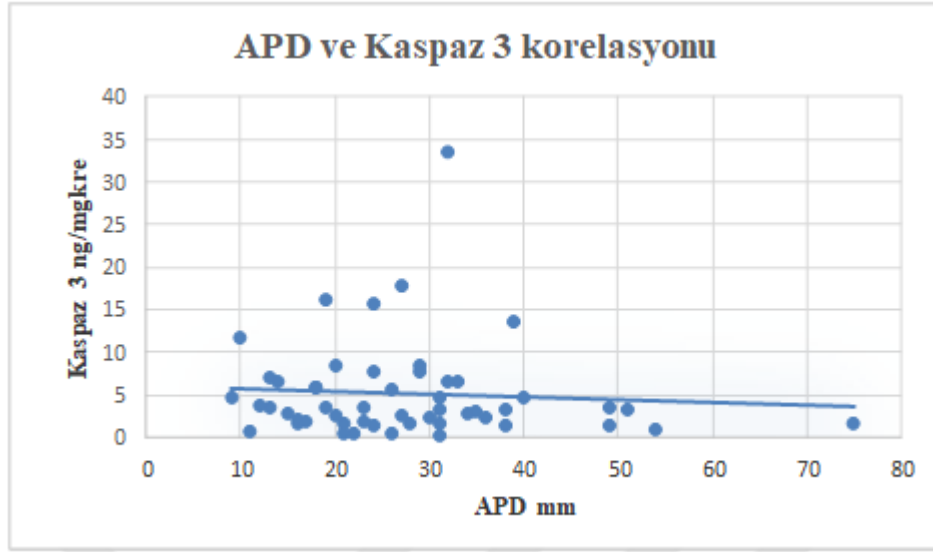
Şekil 4.5: Nonobstrüktif dilatasyon (NOD) grubunda diferansiyel fonksiyon (DRF) ile kaspaz 3 arasındaki korelasyon düzeyleri



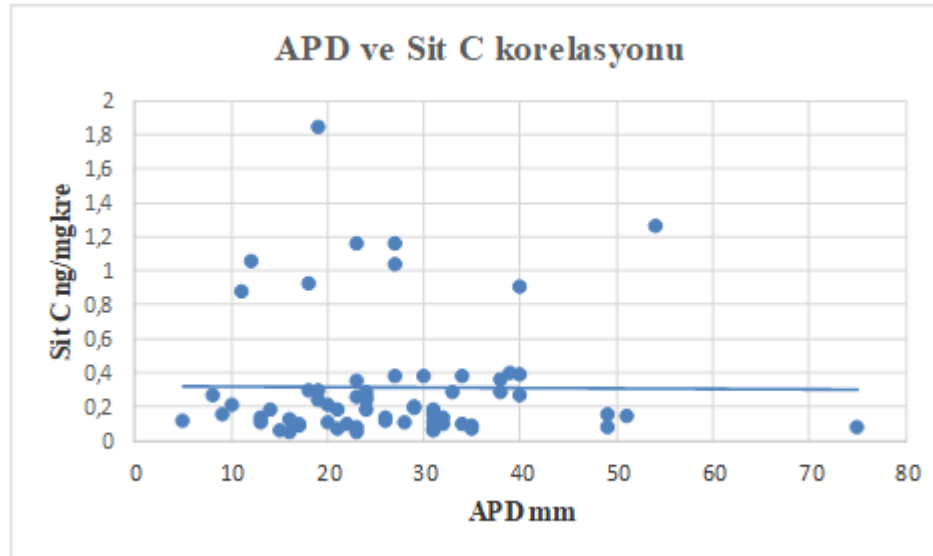
Şekil 4.6: Nonobstrüktif dilatasyon (NOD) grubunda diferansiyel fonksiyon (DRF) ile sitokrom c arasındaki korelasyon düzeyleri

4.5. Pyeloplasti grubunda idrar belirleyicileri, APD, DRF arasında korelasyon düzeyleri

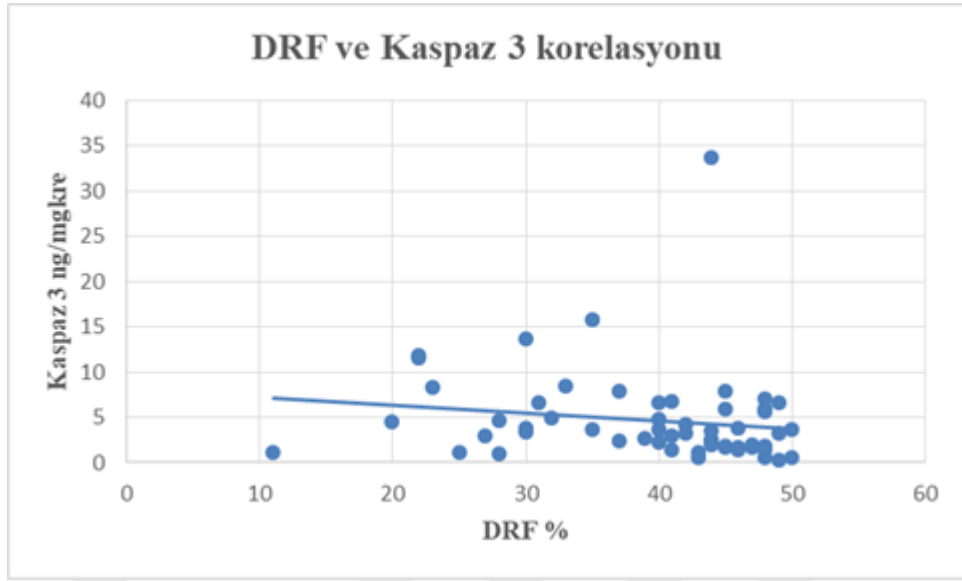
Pyeloplasti grubunda Spearman korelasyon testi ile gerçekleştirilen analizde, idrar belirleyicileri ile APD ve DRF yüzdesi arasında bir korelasyon bulunmadı (Şekil 4.7-10).



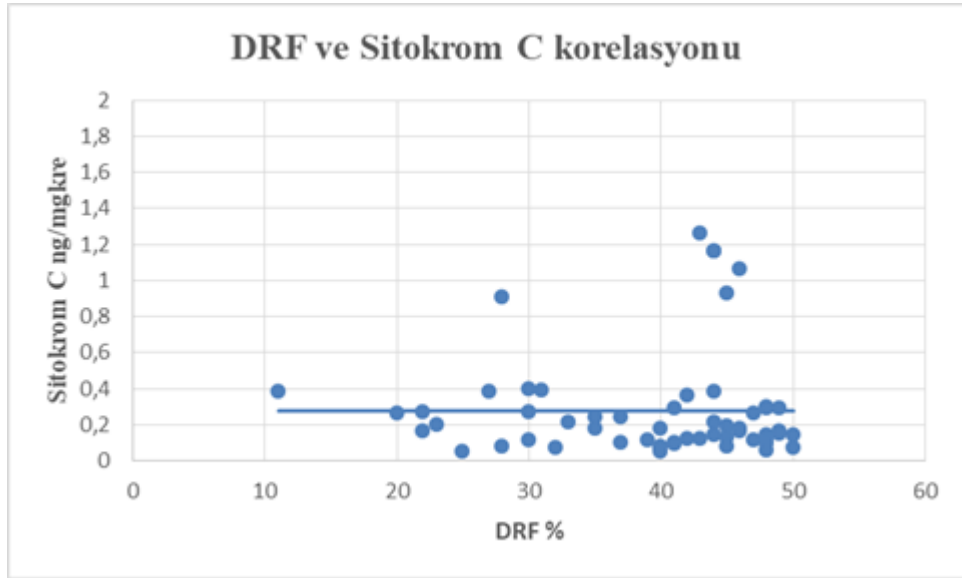
Şekil 4.7: Pyeloplasti grubunda anteroposterior pelvis çapı (APD) ile kaspaz 3 arasındaki korelasyon düzeyleri



Şekil 4.8: Pyeloplasti grubunda anteroposterior pelvis çapı (APD) ile sitokrom c arasındaki korelasyon düzeyler



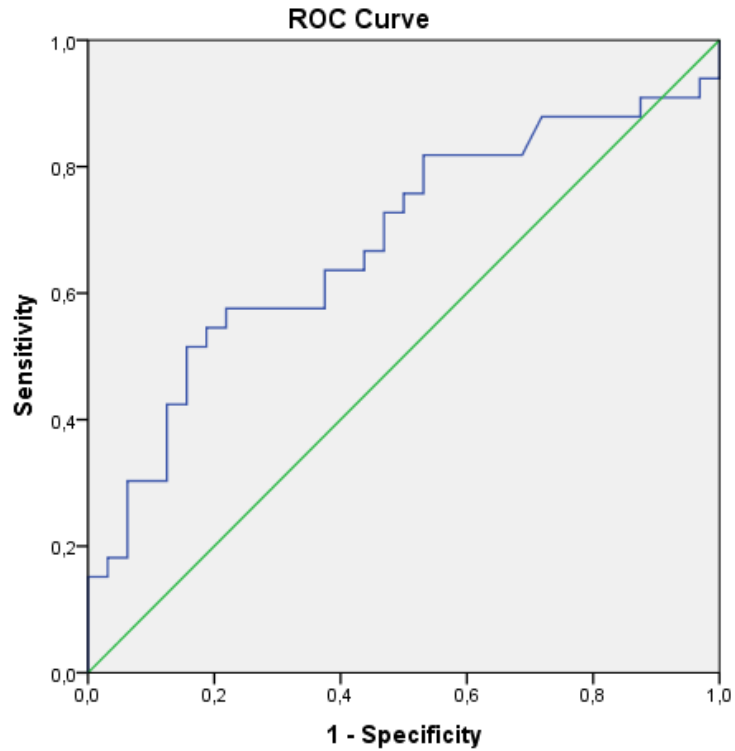
Şekil 4.9: Pyeloplasti grubunda diferansiyel fonksiyon (DRF) ile kaspaz 3 arasındaki korelasyon düzeyleri



Şekil 4.10: Pyeloplasti grubunda diferansiyel fonksiyon (DRF) ile sitokrom c arasındaki korelasyon düzeyleri

4.6. Pyeloplasti ve NOD gruplarındaki idrar Kaspaz 3 ve Sitokrom c düzeylerinin ROC Analizi

Pyeloplasti ve NOD gruplarındaki idrar kaspaz 3 değerlerinin duyarlılığı ve özgünlüğü ROC eğrisinden faydalanılarak hesaplandı. Pyeloplasti olan hastaların idrarlarında kaspaz 3 için *cut-off* değeri 3,31 ng/mg kreatinin olarak alındığında seçicilik % 62,5 ve duyarlılık % 63,6 olarak bulundu (Şekil 4.11). Pyeloplasti kararı verilmesinde pozitif prediktif değer (PPV) ve negatif prediktif değer (NPV) incelendiğinde yaklaşık % 63 oran ile orta derecede yarar sağlayabileceği bulundu (Tablo 3).



Şekil 4.11: İdrar kaspaz 3 düzeyleri için cut-off değeri olarak 3,31 ng/mg kreatinin alındığında elde edilen ROC (Receiver Operating Curve) analizi

Tablo 4.3: Kaspaz düzeylerinin pyeloplasti ayrımında 2X2 doğruluk tablosu

	Pyeloplasti	NOD	Toplam	
Kaspaz 3 (ng/mg kreatinin)				
Pozitif	21	12	33	PPV: 0,636
Kaspaz 3 (ng/mg kreatinin)				
Negatif	12	20	32	NPV: 0,625
Toplam	33	32	65	
	Duyarlılık: 0,636 Seçicilik: 0,625		Doğruluk: 0.631	
Kaspaz 3 ng/mgkreatinin negatif $<3,315 \leq$ Kaspaz 3 ng/mg kreatinin pozitif, PPV: pozitif prediktif değer, NPV: negatif prediktif değer				

5. TARTIŞMA

Çocukluk çağı hidronefrozunun en sık rastlanan nedeni olan ÜPB obstrüksiyonudur. Görülme sıklığı yaklaşık 1500 canlı doğumda 1'dir. Bununla birlikte, hidronefrozlu her hastada ÜPB obstrüksiyonu gözlenmemektedir. Antenatal hidronefrozlu yenidoğan dilatasyonlarında zamanla kendiliğinden regresyon gözlenebildiği gibi, dilatasyonun ilerleyici ve kalıcı böbrek fonksiyon kaybına sebep olduğu çok sayıda vaka bildirilmektedir. ÜPB'de meydana gelen darlık sonucunda idrar, renal pelvisten geçememekte ve bu nedenle böbrek pelvisinde meydana gelen basınç artışı ilerleyici bir böbrek hastalığına yol açmaktadır. ÜPB obstrüksiyonunda tedavi, darlığın veya adinamik segmentin cerrahi olarak çıkarılmasıdır.

Daha önce yapılan retrospektif çalışmalarda (3,4), hidronefrozda % 38-52, prospektif çalışmalarda (75,76) ise % 19-25 oranında cerrahi girişim uygulandığı ve sonuç olarak ÜPB obstrüksiyonunun cerrahiye gitme oranının oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Dilatasyonun ilerleyici ve kalıcı böbrek fonksiyon kaybına sebep olduğu vakaların önüne geçilebilmesi ve hastaların böbrek fonksiyonlarının korunabilmesi açısından ÜPB obstrüksiyonunun erken tanısı ve cerrahi müdahale gerektiren hastaların erken tespiti çok önemlidir. ÜPB tanısı ultrasonografik ve sintigrafik yöntemlerle konabilmektedir. Ancak bu yöntemler obstrüksiyon olmayan olgularda yanlış pozitif sonuçlara da yol açabilmekte ve hastaların gereksiz cerrahi işlem geçirmesine sebep olabilmektedir. Hidronefroz saptanan böbrekte obstrüksiyon olup olmadığının ayrımı oldukça güçtür. Bu durumun en büyük nedeni, obstrüksiyonu işaret eden genel anlamda kabul görmüş referans standartların bulunmamasıdır. Tanı, çoğunlukla tekrarlanması gereken çeşitli radyolojik incelemeler ile kesin olmayan limit verilere dayandırılarak konulmaktadır. Gerçekleştirilen görüntüleme yöntemlerinin bir kısmında radyasyona maruz kalma ile radyokontrast veya radyoizotop özelliğe sahip materyallerin enjeksiyonu önemli bir sorun teşkil etmektedir. ÜPB obstrüksiyonunda renal hasarı önceden belirleyebilecek ve cerrahi müdahale için uygun zamanı gösterebilecek belirleyicilerin bulunmaması, hastalığın tanı ve tedavisindeki önemli eksikliklerdir. Bu nedenle non invaziv olması nedeniyle tercihen idrar örneklerinde, renal fonksiyon kaybı öncesi obstrüksiyonu gösterebilecek biyobelirteçlere ihtiyaç vardır.

Sitokrom c hücre ölüm mekanizmalarındaki rolü ile potansiyel bir belirleyici olarak ilgi odağında tutmaktadır. Goldstein ve ark. (77) yeşil floresan protein (GFP) işaretli sitokrom c kullanarak apoptoz sürecinde sitokrom c salınımı inceledikleri çalışmalarında, sitokrom c-GFP salımının her zaman plazma-membran bütünlüğü bozulmasından önce gerçekleştiğini göstermişlerdir. Sitokrom c salınımı bir kez tetiklendiğinde, uyaran türü ya da uygulama sonrası geçen süreye bakılmaksızın, 5 dakika içerisinde ilgili hücrelerin bünyesindeki sitokrom c'nin tamamının salınımı gerçekleşmektedir (77). Bu çalışma, sitokrom c salımının bir hücrenin kaderini geri dönüşümsüz olarak belirleyebileceği önerisini doğrulamaktadır.

Zager ve ark.'larının (78) yaptığı bir çalışmada, izole edilmiş fare proksimal tübül segmentleri radyografik kontrast bir madde olan ioversol'e maruz bırakıldığında, sitokrom c'nin tübül süspansiyon sistemi içerisine hızla salındığı gösterilmiştir. Araştırmacılar bu değişikliğin tübül hücre ölümünden ziyade mitokondri disfonksiyonuyla ilişkili olduğunu ve sitokrom c salınımının mitokondriyal stresin potansiyel bir belirleyicisi olabileceğini ifade etmişlerdir. (78). Araştırmacıların bir diğer çalışmasında (79), kas içine hipertonic gliserol enjeksiyonunu takiben lokalize kas nekrozu ile seyreden rabdomiyoliz indüklenmiş ve iskemik/ toksik akut böbrek yetmezliği tablosu oluşturulmuştur. Bu tabloda sitokrom c düzeylerinin akut böbrek yetmezliğinin derecesi ile korelasyon gösterdiğini ve apoptozdan ziyade hem iskelet kasını hem de proksimal tübül hücrelerini içeren nekrotik hücre ölümünün bir habercisi olabileceğini ifade etmişlerdir (79). Bu çalışma, sitokrom c salınımının düşünülen aksine yalnızca apoptoza özgü olmayıp, nekrotik hücre ölümünün de bir habercisi olabileceğini düşündürmektedir. Bunun yanı sıra araştırmacılar, üriner sitokrom c atılımının, proksimal tübül hasar ve/veya hücre hasarı ile dolaşımda artan sitokrom c'nin renal atılımını yansıtabileceğini belirtmektedirler.

Sitokrom c düzeylerinin apoptoz mekanizmasının potansiyel bir belirleyicisi olabileceği düşüncesi, bilim insanlarını özellikle apoptoz mekanizmasının önemli rol oynadığı dejeneratif hastalıklarda sitokrom c düzeylerini araştırmaya yönlendirmiştir. Hosoya ve ark.'larının (80) gerçekleştirdiği çalışmada, çoklu organ yetmezliği gözlenen akut ensefalopatide serum sitokrom c ve sitokin düzeyleri incelenmiş; serum sitokrom c düzeyleri başlangıç aşamasındaki olumsuz prognoz için seçiciliği ve duyarlılığı en yüksek belirleyici olarak gösterilmiştir (80).

Sibarani ve ark.'larının (81) ÜBP obstrüksiyonlu farelerin idrar örneklerinde sitokrom c düzeylerini ölçtükleri çalışma, bu parametrenin ÜPB obstrüksiyonunda biyobelirteç olarak kullanılabileceğine dair en umut verici çalışmalardan biridir. ÜBP obstrüksiyonlu grupta sitokrom c düzeylerinin kontrol ve sham gruplarına göre daha yüksek olmasının yanısıra, sitokrom c düzeylerinde 0. günden 4. güne kadar bir artma eğilimi de gösterilmiştir. Ek olarak, kaspaz-3 düzeylerinin de kontrol ve sham grubuna göre yüksek olduğu bildirilmiş; kaspaz-3'ün, sitokrom c ile aynı yönde, glomerül sayısının ise, sitokrom c ve kaspaz-3 düzeyleri ile ters yönde korelasyona sahip olduğu gösterilmiştir (81).

Hücre ölümünün karmaşık moleküler mekanizmasında, kaspazların hücre ölümüne ve biyokimyasal değişikliklerin çoğuna neden olduklarının düşünülmesi, apoptotik süreçlerde kaspaz ailesini ilgi odağına çekmektedir. Kaspaz ailesinden özellikle kaspaz-3'ün potansiyel bir biyobelirteç olarak önemi, 2001 yılında Truong ve ark.'larının (82) yaptıkları çalışmada özellikle vurgulanmaktadır. Kronik obstrüktif üropatili farelerde gerçekleştirilen çalışmada, kaspaz 1, 2, 3, 6, 7, 8, 9, 11 ve 12 ekspresyonlarının ve hücre apoptozunda aracılık eden bu kaspazların rollerinin araştırılması amaçlanmaktadır. Tıkalı böbreklerde sırasıyla 4. ve 30. günlerde kontrolün 4 ve 7 katına ulaşan belirgin bir kaspaz-3 aktivitesi artışı bildirilmektedir. Bu çalışma ile değerlendirilen kaspazlar arasında kaspaz-3 aktivitesinin, üriner obstrüksiyon ile bağlantılı renal hücre apoptozunda merkezi role sahip olduğu gösterilmiştir (82). İlginin kaspaz ailesinden özellikle kaspaz-3'e kayması ile hücre ölümü süreçlerini içeren özellikle dejeneratif hastalıklar üzerinde yapılan araştırmalar hız kazanarak devam etmektedir. Yang ve ark.'larının (83) gerçekleştirdikleri çalışmada, Wistar sıçanlarında subtotal (5/6) nefrektomiyi takiben 7, 15, 30, 60, 90 ve 120. günlerde çıkarılan böbrek doku örnekleri, kaspaz-3 aktivitesi (modifiye florometrik yöntem), kaspaz-3 protein düzeyleri (Western blot yöntemi) ve kaspaz-3 mRNA düzeyleri (Northern blot yöntemi) araştırılmıştır. Çalışma sonucunda araştırmacılar, apoptozun yukarı regülasyonunun kaspaz-3 düzeyleri, aktivasyonu ve mRNA düzeylerindeki artışlarla ilişkili olması nedeniyle, muhtemelen kaspaz-3 bağımlı olduğunu belirtmektedirler. Bununla birlikte, renal yaralanmalarda gözlenen kaspaz-3 aktivitesindeki artış; kaspaz-3'ün de novo sentezi için gerekli olan kaspaz-3 mRNA transkripsiyonundaki artış sonucu kaspaz-3 öncü proteinlerinde ve dolayısıyla aktif kaspaz-3 düzeylerinde gözlenen artışla ilişkilendirilmektedir (83).

Geçtiğimiz yıllarda Shirazi ve ark.'larının (84) yürüttükleri çalışmada unilateral ÜPB obstrüksiyonlu çocuklarda kaspaz-3 enzimi ve TNF- α 'nın biyobelirteç olarak uygulanabilirliği araştırılmıştır. Çalışmaya 31 unilateral ÜPB obstrüksiyonlu ve kontrol grubu olarak 33 sağlıklı çocuk dahil edilmiştir. ÜPB grubunda etkilenen böbreklerin ameliyat öncesi ve sonrası (3. ve 6. aylarda) APD ve kortikal kalınlıkları ile birlikte üriner kaspaz-3 ve TNF- α düzeyleri değerlendirilmiştir. ÜPB grubundaki etkilenen böbreklerde, hastalıkla uyumlu olarak APD'de artış ve kortikal kalınlıkta azalma gösterilmiştir. Aynı zamanda, ÜPB grubu idrar örneklerinde hem kaspaz-3 düzeyleri hem de TNF- α düzeyleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksek saptanmıştır (sırasıyla $p<0,001$; $p<0,001$). Pyeloplasti sonrasında tekrarlanan ölçümlerde ÜPB grubunda renal APD'de önemli miktarlarda azalma ve kortikal kalınlıkta artış gözlenmiştir. Benzer şekilde, ÜPB grubu üriner kaspaz-3 ve TNF- α düzeyleri, pyeloplasti sonrası 3. ayda ciddi düşüş gösterirken, 6. ayda kontrol grubu ile yaklaşık olarak aynı düzeylere düşmektedir (sırasıyla $p=0,8$; $p=0,4$). Araştırmacılar bu çalışmalarında, üriner kaspaz-3 ve TNF- α düzeylerinin ÜPB obstrüksiyonlu hastaların pyeloplasti sonrası takibinde iyileşmenin izlenmesinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte, potansiyel cerrahi müdahale gerekliliği açısından belirleyici olarak kullanılmaları konusunda, daha fazla çalışma yapılmasının gerektiğini belirtmektedirler (84).

Kaspaz-3'ün apoptoz süreçlerinde üstlendiği kilit rol, yalnız böbrekle sınırlı kalmayarak apoptozun rol aldığı düşünülen ve farklı organların etkilendiği birçok hastalık ile ilişkilendirilmiştir. Örneğin, subaraknoid kanama (SAH) geçirmiş hastaların serum ve beyin omurilik sıvısı örneklerinde kaspaz-3 düzeylerinin, sağlıklı gruba kıyasla yüksek olduğu gösterilerek, bu artış nöronal apoptoz ile ilişkilendirilmiştir (85). Buna ek olarak, anevrizmal subaraknoid kanama (aSAH) olgularında gerçekleştirilen başka bir çalışmada, aSAH hastalarında serum kaspaz-3 aktivitelerinin arttığı ve bu artışın aSAH şiddeti ile korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (86). Günümüze dek yüksek kaspaz-3 ekspresyonu, meme kanserine özgü olumsuz sağkalım (87), inme başlangıcı ile beyin parankiminde ortaya çıkan hücre ölümü (88) ve doku hasarının rol oynadığı diabetes mellitus ile kronik periodontitis (89) gibi apoptoz sürecini içeren birçok patolojik durum ile ilişkilendirilmektedir.

ÜPB obstrüksiyonunda, böbrek üreteropelvisinde meydana gelen bir obstrüksiyon kaynaklı basıncın yükselmesi ile ultrafiltratın alt üriner sisteme gönderilememesi sonucu hücre ölümleri gerçekleşmektedir. Bu bulgular, ÜPB obstrüksiyonunda ortaya çıkan hücre ölüm mekanizmasının, sitokrom c üzerinden gerçekleşen intrinsik apoptoz yolağı yerine, TNF süper ailesi üyeleri olan TNF reseptörü-1 ve ligandı olan TNF- α üzerinden yürüyen ekstrinsik apoptoz yolağı üzerinden gerçekleşebileceğini düşündürmektedir. Apoptozun ekstrinsik yolağında hücre dışı sinyaller sonucu ölüm reseptörlerine ölüm sinyallerinin bağlanmasıyla, hücre yüzeyindeki bu reseptörler trimetrik bir yapı kazanmaktadır. Ölüm reseptörlerinden TNFR1'e TNF- α bağlanmasıyla meydana gelen bu değişiklik, adaptör proteinlerinden olan TRADD'ın bağlanmasıyla sonuçlanır. TRADD daha sonra FADD'ı bağlarken, ölüm efektör alanının dimerizasyonu yoluyla FADD prokaspaz-8 ile birleşerek prokaspaz-8'in oto-katalitik aktivasyonu ile sonuçlanan bir DISC kompleksi oluşturmaktadır. Aktif kaspaz-8 doğrudan ya da dolaylı yolla kaspaz-3'ü aktive eder. Kaspaz-8'in dolaylı yolla kaspaz-3'ü aktive etmesi, aktivatör olan Bid'i keserek mitokondriyal yol üzerinden kaspaz-9'u aktive etmesi ile gerçekleşir.

Çalışmamızda preoperatif, postoperatif, NOD ve kontrol gruplarında idrar sitokrom c düzeylerinde bir değişiklik saptanmamıştır. Üriner sitokrom c düzeyleri ile pyeloplasti ve NOD gruplarının APD ve DFR ölçümleri arasında da korelasyon yoktur. Çalışmamız, Sibarani ve ark.'larının (81) sitokrom c ve ÜPB obstrüksiyonu arasında gösterdiği korelasyonu desteklememektedir. Sitokrom c düzeylerinde anlamlı bir artış gerçekleşmemesi, aktif kaspaz-8'in mitokondriyal yolla değil, doğrudan kaspaz-3'ü aktive ettiği teorisini güçlendirmektedir. Aktive edilen kaspaz-3 ICAD'ı CAD'a çevirerek DNA'nın nükleozomal alt birimlere ayrılmasına neden olabilir. Ancak sitokrom c düzeylerinde farklılığa rastlanmaması sonucu ortaya çıkan, apoptozun, TNF- α üzerinden yürüyen ekstrinsik apoptoz yolağı üzerinden gerçekleşebileceği düşüncesi Shirazi ve ark.'larının (84) gerçekleştirdiği çalışmada gösterdikleri üriner TNF- α düzeyleri ile ÜPB obstrüksiyonu arasındaki korelasyonun nedenini açıklar niteliktedir.

Gerçekleştirdiğimiz çalışmada, idrar kaspaz-3 düzeyleri preoperatif grupta postoperatif gruba kıyasla yüksek saptanmıştır. Bu bulgular, ÜPB obstrüksiyonunda üriner kaspaz-3 düzeylerinin arttığını doğrulamaktadır. Ancak, üriner kaspaz-3 düzeyleri ile pyeloplasti ve NOD gruplarının APD ve DFR ölçümleri arasında

korelasyon saptanmamıştır. Bununla birlikte, postoperatif grup ile NOD ve kontrol gruplarında anlamlı bir farklılık tespit edilmemesi, cerrahi müdahale sonrasında, tedavi ile birlikte kaspaz-3 düzeylerinin sağlıklı çocuklar ile neredeyse aynı seviyelere düşmesi, tedavi başarısının değerlendirilmesinde üriner kaspaz-3'ün bir belirteç olarak kullanılabileceğini ileri sürebiliriz. Gerçekleştirdiğimiz ROC analizi sonucunda, hidronefrozu olan hastalarda idrar kaspaz 3 için cut-off değer 3.31 ng/mg kreatinin alındığında, seçicilik % 62,5 ve duyarlılık % 63,6 olarak orta derecede bulunmuştur. Dolayısıyla bulgular, üriner kaspaz-3'ün düzeylerinin ÜPB obstrüksiyonunun takibinde non-invaziv bir yöntem olarak kullanılabileceği düşüncesini desteklemektedir. Bununla birlikte, ÜPB obstrüksiyonunda cerrahi müdahale gereksiniminin belirlenmesinde, üriner kaspaz-3'ten yararlanılması için daha yüksek sayıda hasta ile gerçekleştirilecek çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇLAR

Sonuç olarak, çalımamızda ÜPB obstrüksiyonlu hastalarda üriner kaspaz-3 düzeylerinin artarken, sitokrom c düzeylerinde anlamlı bir artış olmaması, hücre ölüm mekanizmasında ekstrinsik apoptoz yolağının rol oynadığı teorisini güçlendirmektedir. Hastalıkta rol oynayan hücre ölüm mekanizmasının tanımlanmasının, ileride gerçekleştirilecek olan ÜPB obstrüksiyonu tanı ve tedavi araştırmalarının yol haritasının belirlenmesindeki önemi büyüktür. Aynı zamanda üriner kaspaz-3 düzeylerinin preoperatif grupta, postoperatif gruba göre yüksek saptanması, ameliyat sonrası dönemde hastalığın seyrini değerlendirmede kaspaz-3'ün non-invaziv bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, ÜPB obstrüksiyonunda cerrahi müdahale gereksiniminin belirlenmesinde üriner kaspaz-3'ten yararlanılması noktasında, daha yüksek sayıda hasta ile gerçekleştirilecek çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Wang Y, Puri P, Hassan J, Miyakita H, Reen DJ. Abnormal innervation and altered nerve growth factor messenger ribonucleic acid expression in ureteropelvic junction obstruction. *J Urol*. 1995;154:679.
2. Nguyen HT, Herndon CDA, Cooper C, Gatti J, Kirsch A, Kokorowski P ve ark. The Society for Fetal Urology consensus statement on the evaluation and management of antenatal hydronephrosis. *J Pediatr Urol*. 2010;6:212-231.
3. Chertin B, Pollack A, Koulikov D, Rabinowitz R, Hain D, Hadas-Halpren I ve ark. A. Conservative treatment of ureteropelvic junction obstruction in children with antenatal diagnosis of hydronephrosis: lessons learned after 16 years of follow-up. *Eur Urol*. 2006;49:734–738.
4. Madden NP, Thomas DF, Gordon AC, Arthur RJ, Irving HC, Smith SE. Antenatally detected pelviureteric junction obstruction. Is non-operation safe? *Br J Urol*. 1991;68:305–310.
5. Hall JE. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology, 2011;303-40.
6. Öner G. Böbreklerde idrar oluşumu. “Tıbbi Fizyoloji”, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2001;279-312.
7. David J, Newman MSC. Tietz basic principles in clinical chemistry. Çev Ed. Aslan D. Klinik kimyada temel ilkeler. Türkiye. Palme Yayıncılık. 2005;308-722.
8. İşlekel H, Böbrek fonksiyonları ve bozuklukları. In: Onat T, Emerk K, Sözmen Y. İnsan Biyokimyası, Palme Yayıncılık. 2002;37-42.
9. Van Veldhuisen DJ, Ruilope LM, Maisel AS, Damman K. Biomarkers of renal injury and function: diagnostic, prognostic and therapeutic implications in heart failure. *Eur Heart J*, 2016; 37:2577-2585.
10. Uemura O, Nagai T, Yamakawa S, Kaneko T, Hibi Y, Yamasaki Y, Yamamoto M, Nakano M, Iwata N, Hibino S. Assessment of kidney function in children by enzymatic determination of 2- or 24-h creatinine clearance: comparison with inulin clearance. *Clin Exp Nephrol*. 2016;20:462-468.
11. Damment S, Secker R, Shen V, Lorenzo V and Rodriguez M. Long-term treatment with lanthanum carbonate reduces mineral and bone abnormalities in rats with chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant*. 2011;26:1803-1812.

12. Abernethy VE, Lieberthal W. Acute renal failure in the critically ill patient. *Crit Care Clin*. 2002; 18:203-222.
13. Humes HD. Acute renal failure prevailing challenges and prospects for the future. *Kidney Int*. 1995; 48:26-32.
14. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron*. 1976; 16:31-41.
15. Rossignol P, Massy ZA, Azizi M, Bakris G, Ritz E, Covic A ve ark. ERA-EDTA EURECA-m working group; Red de Investigación Renal (REDINREN) network; Cardiovascular and Renal Clinical Trialists (F-CRIN INI-CRCT) network. The double challenge of resistant hypertension and chronic kidney disease. *Lancet*. 2015; 386:1588-1598.
16. Nguyen HT, Herndon C, Cooper C, Gatti J, Kirsch A, Kokorowski P, ve ark. The Society for Fetal Urology consensus statement on the evaluation and management of antenatal hydronephrosis. *Journal of Pediatric Urology*. 2010; 6:212-231.
17. Woodward M, Frank D. Postnatal management of antenatal hydronephrosis. *BJU international*. 2002; 89:149 -156.
18. Park JM, Bloom DA. The pathophysiology of UPJ obstruction: current concepts. *Urologic Clinics of North America*. 1998; 25:161-169.
19. Lucy M, Osborn MD, Thomas G, DeWitt MD, Lewis R, First MD. ve ark. *Pediatrics*. İstanbul. Güneş Kitabevi, 2007;1140-1358.
20. Marcus R. Assessment and management of newborn. *World J Urol* 2004; 22:73-78.
21. Diamond DA, Peters CA. Perinatal urology. *Pediatric Nephrology*. 1998; 25:73-79.
22. Dudley JA, Haworth JM, McGraw ME, Frank JD, Tizard EJ. Clinical relevance and implications of antenatal hydronephrosis. *Arch Dis Chil Fetal Neonatal Ed*. 1997; 76:31–34.
23. Woodward M, Frank D. Antenatal problems: management in the postnatal period. *Clinical Pediatric Nephrology*. Oxford Univ Press. 2002;270-282.
24. Lee RS, Cendron M, Kinnamon DD, Nguyen HT. Antenatal hydronephrosis as a predictor of postnatal outcome: a metaanalysis. *Pediatrics*. 2006; 118:586-93.
25. Ahmad G, Green P. Outcome of fetal pyelectasis diagnosed antenatally. *J Obstet Gynaecol*. 2005; 25:119-222.

26. Coelho GM, Bouzada MC, Pereira AK, Figueiredo BF, Leite MR, Oliveira DS ve ark. Outcome of isolated antenatal hydronephrosis: a prospective cohort study. *Pediatr Nephrol.* 2007; 22:1727-1734.
27. Coelho GM, Bouzada MC, Lemos GS, Pereira AK, Lima BP, Oliveira EA. Risk factors for urinary tract infection in children with prenatal renal pelvic dilatation. *J Urol.* 2008; 179:284-289.
28. Estrada CR Jr. Prenatal hydronephrosis: early evaluation. *Curr Opin Urol.* 2008; 18:401-03.
29. Feldman DM, DeCambre M, Kong E, Borgida A, Jamil M, McKenna P ve ark. Evaluation and follow-up of fetal hydronephrosis. *J Ultrasound Med.* 2001; 20:1065-1069.
30. Signorelli M, Cerri V, Taddei F, Groli C, Bianchi UA. Prenatal diagnosis and management of mild fetal pyelectasis: implications for neonatal outcome and follow-up. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005; 118:154-159.
31. Fernbach SK, Maizels M, Conway JJ. Ultrasound grading of hydronephrosis: introduction to the system used by the Society for Fetal Urology. *Pediatr Radiol.* 1993; 23:478-480.
32. Keays MA, Guerra LA, Mihill J, Raju G, Al-Asheeri N, Geier P ve ark. Reliability assessment of Society for Fetal Urology ultrasound grading system for hydronephrosis. *J Urol.* 2008; 180:1680-1682.
33. Sibai H, Salle JL, Houle AM, Lambert R. Hydronephrosis with diffuse or segmental cortical thinning: impact on renal function. *J Urol.* 2001; 165:2293-95.
34. Venkatesan K, Green J, Shapiro SR, Steinhardt GF. Correlation of hydronephrosis index to society of fetal urology hydronephrosis scale. *Adv Urol.* 2009;960490.
35. Maizels M, Wang E, Sabbagha RE, Dinsmoor M, Seshadri R, Ginsberg N ve ark. Late second trimester assessment of pyelectasis (SERP) to predict pediatric urological outcome is improved by checking additional features. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2006; 19:295-303.
36. . Maizels M, Alpert SA, Houston JTB, Sabbagha RE, Parilla BV, MacGregor SN. Fetal bladder sagittal length: a simple monitor to assess normal and enlarged fetal bladder size, and forecast clinical outcome. *J Urol.* 2004; 172:1995-1999.

37. Oliveira EA, Diniz JS, Cabral AC, Leite HV, Colosimo EA, Oliveira RB ve ark. Prognostic factors in fetal hydronephrosis: a multivariate analysis. *Pediatr Nephrol.* 1999; 13:859-864.
38. Oliveira EA, Diniz JS, Cabral AC, Pereira AK, Leite HV, Colosimo EA ve ark. Predictive factors of fetal urethralobstruction: a multivariate analysis. *Fetal Diagn Ther.* 2000; 15:180-206.
39. Mendelsohn C. Functional obstruction: the renal pelvis rules. *J. Clin. Invest.* 2004;113, 957–959.
40. Poulakis V, Witzsch U, Schultheiss D, Rathert P, Becht E. History of ureteropelvic junction obstruction repair (pyeloplasty). From Trendelenburg (1886) to the present. *Urologe A.* 2004;43(12):1544-59.
41. Pattaras JG, Moore RG. Laparoscopic pyeloplasty. *J Endourol.* 2000; 14:895-904.
42. Bauer JJ, Bishoff JT, Moore RG, Chen RN, Iverson AJ, Kavoussi LR. Laparoscopic versus open pyeloplasty: assessment of objectives and subjective outcome. *J Urol* 1999; 162:692-695.
43. Albqami N, Janetschek G. Laparoscopic pyeloplasty. *Ann Urol.* 2006; 40:363-67.
44. Jarrett TW, Chan DY, Charambura TC, Fugita O, Kavoussi LR. Laparoscopic pyeloplasty: the first 100 cases. *J Urol* 2002; 167:1253-1256.
45. Wang K. Molecular mechanism of liver injury: Apoptosis or necrosis. *Exp Toxicol Pathol.* 2014; 66:351-356.
46. Cachat F, Lange-Sperandio B, Chang A, Kiley SC, Thornhill BA, Forbes MS. ve ark. Ureteral obstruction in neonatal mice elicits segment-specific tubular cell responses leading to nephron loss. *Kidney Int.* 2003;63:564-575.
47. Coşkun G, Özgür H. Apoptoz ve nekrozun moleküler mekanizması. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi.* 2011;20:145-158.
48. GEWIES, A., 2003, ApoReview - Introduction to Apoptosis [online] <http://www.celldeath.de/encyclo/aporev/apointro.pdf>.
49. Friedrich K, Wieder T, Von Haefen C, Radetzki S, Janicke R, Schulze-Osthoff K. ve ark. Overexpression of caspase-3 restores sensivity for drug-induced apoptosis in breast cancer cell lines with acquired drug resistance. *Oncogne.* 2001; 20:2749-2760.

50. Hu W, Kavanagh JJ. Anticancer therapy targeting the apoptotic pathway. *The Lancet Oncology*. 2003; 4:721-729.
51. Fink SL, Cookson BT. Apoptosis, pyroptosis, and necrosis: mechanistic description of dead and dying eukaryotic cells. *Infection and Immunity*. 2005; 73:1907-1916.
52. Malhi H, Gores GJ. Cellular and molecular mechanisms of liver injury. *Gastroenterology*. 2008; 134:1641-1654.
53. Leist M, Single B, Castoldi FA, Kühnle S, Nicotera P. Intracellular adenosine triphosphate (ATP) concentration: a switch in the decision between apoptosis and necrosis. *J. Exp. Med.* 1997; 185:1481-1486.
54. D'Arcy SM. Cell Death. A review of major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biol Int*. 2019; 43:582-592.
55. Vanlangenakker N, Berghe TV, Krysko VD, Festjens N, Vandenabeele P. Molecular mechanism and pathophysiology of necrotic cell death. *Curr. Mol. Med.* 2008; 8:207-220.
56. Murphy MB, Martin SJ. 2003, Caspases: structure, activation pathways, and substrates, YIN, X. M., DONG, Z., *Essentials of Apoptosis: A Guide for Basic and Clinical Research*, Humanpress, USA. pp:3,5,6,7,8.
57. Fan T, Han L, Cong R, Liang J. Caspase family proteases and apoptosis. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*. 2005; 37:719–727.
58. Chevalier RL. Biomarkers of congenital obstructive nephropathy: Past, present and future. *J Urol*. 2004; 172:852-857.
59. Decramer S, Bascands JL, Schanstra JP. Non-invasive markers of ureteropelvic junction obstruction. *World J Urol*. 2007; 25:457-465.
60. Beckers G, Mann H, Melzer H, Bemelmans B, Jakse G, Rohrmann D. Urinary Sodium Dodecyl Sulfate Electrophoresis with Silver Staining. A non-invasive Diagnostic Tool for Obstructive Uropathy in Children. *J Urol*. 2008; 179:703-707.
61. Ko S, Kim J, Na DC, Park S, Park S, Hyun JY ve ark. A small molecule inhibitor of ATPase activity of HSP70 induces apoptosis and has antitumor activities. *Chem Biol*. 2015; 22:391-403.
62. Manucha W, Valles PG. Cytoprotective role of nitric oxide associated with Hsp70 expression in neonatal obstructive nephropathy. *Nitric Oxide* 2008; 18:204–215.

63. Hough A. M, Andrew C. *Advances in Microbial Physiology*, Academic Press 2015;1-75.
64. Ow YP, Green DR, Hao Z, Mak TW. Cytochrome c: functions beyond respiration. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008; 9:532-542.
65. Manickam P, Kaushik A, Karunakaran C, Bhansali S. Recent advances in cytochrome c biosensing Technologies. *Biosensors and Bioelectronics.* 2017; 87:654-668.
66. Hüttemann M, Pecina P, Rainbolt M, Sanderson H. T, Kagan E. V, Samavati L. The Multiple Functions of Cytochrome C and Their Regulation in Life and Death Decisions of The Mammalian Cell From Respiration to Apoptosis. *Mitochondrion.* 2011; 11:369–381.
67. Eleftheriadis T, Pissas G, Liakopoulos V, Stefanidis I. Cytochrome C as a Potentially Clinical Useful Marker of Mitochondrial and Cellular Damage. *Front Immunol.* 2016; 7:279.
68. Chaban Y, Boekema JE, Dudkina VN. Structures of mitochondrial oxidative phosphorylation supercomplexes and mechanism for their stabilisation. *Biochim Biophys Acta.* 2014; 1837:418-426.
69. Nagata S. Apoptosis by death factor. *Cell.* 1997;88:355-65.
70. Tomatır AG. Apoptoz; programlı hücre ölümü. *T. Klin. J. Med. Sci.* 2003; 23:499-508.
71. Barrett A, Rawlings N. *Handbook of Proteolytic Enzymes* Third Edition. Academic Press. 2013;2257-65.
72. Lavrik IN, Golks A, Krammer PH. Caspases: pharmacological manipulation of cell death. *J. Clin. Invest.* 2005; 115:2665-2672.
73. Sakahira H, Enari M, Nagata S. Cleavage of CAD inhibitor in CAD activation and DNA degradation during apoptosis. *Nature.* 1998; 391:96-99.
74. Larsen BD, Sorensen CS. The caspase-activated DNase: apoptosis and beyond. *FEBS J.* 2017; 284:1160-1170.
75. Dhillon HK. Prenatally diagnosed hydronephrosis: the Great Ormond Street experience. *Br J Urol.* 1998; 81:39-44.
76. Palmer LS, Maizels M, Cartwright PC, Fernbach SK, Conway JJ. Surgery versus observation for managing obstructive grade 3 to 4 unilateral hydronephrosis: a report from the Society for Fetal Urology. *J Urol.* 1998; 159:222-228.

77. Goldstein JC, Waterhouse NJ, Juins P, Evan GI, Green DR. The coordinate release of cytochrome c during apoptosis is rapid complete and kinetically invariant. *Nat Cell Biol.* 2000; 2:156–162.
78. Zager RA, Johnson AC, Hanson SY. Radiographic contrast media–induced tubular injury: Evaluation of oxidant stress and plasma membrane integrity. *Kidney Int.* 2003; 64:128–139.
79. Zager RA, Johnson ACM, Hanson SY. Proximal tubular cytochrome c efflux: Determinant, and potential marker, of mitochondrial injury. *Kidney Int.* 2004; 65:2123–2134.
80. Hosoya M, Kawasaki Y, Katayose M, Sakuma H, Watanabe M, Igarashi E ve ark. Prognostic predictive values of serum cytochrome c, cytokines, and other laboratory measurements in acute encephalopathy with multiple organ failure. *Arch Dis Child.* 2006; 91:469–472.
81. Sibarani J, Tjahjodjati T, Atik N, Rachmadi D, Mustafa A. Urinary cytochrome c and caspase-3 as novel biomarker of renal function impairment in unilateral Ureteropelvic junction obstruction model of wistar rats. *Res Rep Urol.* 2020; 12:217–224.
82. Truong LD, Choi Y, Tsao CC, Ayala G, Sheikh-Hamad D, Nasssar G, Suki WN. Renal cell apoptosis in chronic obstructive uropathy: the rolees of caspases. *Kidney Int.* 2001; 60:924–934.
83. Yang B, Nahas ME, Thomas GL, Haylor JL, Watson PF, Wagner B, Jhonson TS. Caspase-3 and apoptosis in experimental chronic renal scarring. *Kidney İnt.* 2001; 60:1765-1776.
84. Shirazi M, Eslahi A, Sharifi V, Rahimi F, Safarpour A. Evaluation of caspase 3 enzyme and TNF-alpha as biomarkers in ureteropelvic junction obstruction in children- a preliminary report. *Pak J Med Sci.* 2017; 33:1-5.
85. Kacira T, Kemerdere R, Atukeren P, Hanimoglu H, Sanus GZ, Kucur M ve ark. Detection of caspase-3, neuron specific enolase, and high-sensitivity c-reactive protein levels in both cerebrospinal fluid and serum of patients after aneurtsmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery.* 2007; 60:674–680.
86. Wang J, Wang J, Hu X. Caspase-3 in serum predicts outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Clin Chim Acta.* 2016; 460:196–202.

87. Pu X, Storr SJ, Zhang Y, Rakha EA, Green AR, Ellis IO ve ark. Caspase-3 and caspase-8 expression in breast cancer: caspase-3 is associated with survival. *Apoptosis*. 2017; 22:357-368.
88. Montaner J, Mendioroz M, Ribo M, Delgado P, Quintana M, Penalba A ve ark. A panel of biomarkers including caspase-3 and D-dimer may differentiate acute stroke from stroke-mimicking conditions in the emergency department. *J Intern Med*. 2011; 270:166-174.
89. Shoukheba MY, Ibrahim WS. Caspase-3 activity as a novel biomarker in type 2 diabetes mellitus patients with chronic periodontitis. *Egyptian Dental Journal*. 2016; 62:32811-32821.



HAM VERİLER

Hasta No	Grup	cinsiyet	Yaş	AP çapı	DRF	Kaspazng/mgkreatinin	Sitokrom c ng/mgkre
504	1	1	12	36	37	2,31	0,1
696	2	1	49	26	43	0,48	0,12
585	1	1	39	32	41	6,64	0,1
692	2	1	59	21	50	0,51	0,07
582	1	1	10	24	35	15,75	0,18
740	2	1	43	16	40	2,16	0,05
529	1	1	7	29	23	8,31	0,2
694	2	1	37	19	35	3,57	0,24
581	1	1	10	39	30	13,64	0,4
741	2	1	44	31	40	4,75	0,07
613	1	1	36	31	30	3,33	0,11
699	2	1	72	49	40	3,57	0,08
588	1	1	3	34	27	2,84	0,38
610	2	1	5	24	41	1,38	0,29
571	1	1	50	24	37	7,76	0,24
761	2	1	81	28	47	1,61	0,11
709	1	1	10	40	28	4,58	0,91
765	2	1	12	38	42	3,18	0,36
645	1	2	7	26	48	5,69	0,14
742	2	1	16	27	44	2,51	1,16
717	1	1	18	23	44	3,45	1,16
766	2	1	36	21	46	1,58	0,18
556	1	1	36	27	44	17,88	1,04
623	2	1	60	15	50	2,84	0,06
710	1	1	18	20	33	8,37	0,21
525	3	1	45	13	48	12,44	0,36
763	2	1	20	18	48	5,87	0,3
650	3	1	14	12	43	3,9	0,14
674	3	2	20	21	48	1,73	0,36
722	3	1	18	18	45	2,52	0,4
557	3	1	72	15	40	3,6	0,48
552	3	2	76	25	45	3,3	0,31
157	3	1	44	17	43	3,19	0,07
549	3	1	34	17	46	1,89	0,11
532	3	1	46	26	45	0,53	0,26
589	3	1	52	12	48	7,87	0,07
590	3	1	16	8	43	2,16	0,07
561	3	2	19	17	48	0,9	0,59
655	3	1	45	9	45	4,55	0,4

576	3	2	40	14	49	3,62	0,29
647	3	1	26	7	47	0,64	0,12
627	3	1	54	10	47	6,27	0,18
626	3	1	136	21	46	2,71	0,16
565	3	1	120	26	47	2,18	0,15
584	3	1	108	20	46	1,85	0,07
578	3	1	9	18	48	1,11	0,12
648	3	1	120	21	47	4,28	0,32
575	3	1	16	30	45	7,83	0,14
615	3	1	34	13	46	3,22	0,33
772	3	1	72	18	48	3,87	0,4
784	3	1	24	20	49	2,05	0,09
787	3	1	12	18	47	1,64	0,11
790	3	1	16	21	49	0,75	0,13
642	1	1	31	22	48	0,54	0,1
757	2	1	55	16	45	1,59	0,13
620	1	1	10	19	47	16,07	1,85
746	2	1	22	11	50	0,71	0,88
583	1	1	25	54	43	1,02	1,26
593	3	1	44	14	49	1,15	0,11
705	2	1	63	13	48	6,92	0,11
698	1	1	60	29	45	7,8	0,19
755	2	1	73	33	49	6,59	0,29
580	1	1	63	51	49	3,2	0,15
155	3	2	45	6	49	1,62	0,15
649	2	1	83	38	48	1,4	0,29
558	1	1	104	30	44	2,32	0,38
701	2	1	121	12	46	3,74	1,06
547	1	2	42	35	41	2,95	0,09
758	2	2	76	18	45	5,9	0,93
596	1	1	33	20	39	2,56	0,11
634	2	1	64	14	40	6,61	0,18
636	1	1	57	75	45	1,73	0,08
691	2	1	78	49	46	1,31	0,16
591	1	1	7	32	44	33,64	0,14
767	2	1	29	23	47	1,92	0,26
659	1	1	71	31	48	1,73	0,06
690	2	1	80	13	50	3,61	0,14
750	1	1	21		47	8,63	0,18
762	2	1	48		48	0,46	0,09

735	1	2	13	31	49	0,18	0,16
764	2	1	43	17	44	1,96	0,21
167	3	1	9	9	56	4,67	0,13
89	3	1	18	10	49	11,67	0,47
142	3	1	7	11	49	1,68	0,14
234	4	2	16			10,99	0,15
192	4	1	15			1,67	0,22
19	1	1	27	34	48	5,55	0,1
264	4	2	15			1,71	0,09
88	2	1	87	5	42	4,16	0,12
17	1	1	2,5	24	20	4,42	0,26
179	2	1	6	27	11	1,05	0,38
721	1	1	18	19	45	0,51	0,3
752	2	1	26	17	46	13,9	0,1
629	1	2	7	40	22	11,83	0,27
702	2	2	10	23	47	3,59	0,35
587	1	1	13	40	31	6,52	0,39
706	2	1	23	23	28	0,93	0,08
527	1	1	5	35	32	4,82	0,07
753	2	1	44	8	30	3,79	0,27
507	1	2	3	31	22	11,45	0,16
751	2	1	51	23	25	1,11	0,05
221	4	1	17			0,83	0,05
224	4	2	16			2,32	0,19
219	4	1	44			11,7	0,18
235	4	1	45			4,04	0,28
242	4	1	96			0,73	0,07
685	4	2	96			0,61	0,54
673	4	1	49			1,32	0,07
248	4	1	36			1,14	0,1
677	4	1	48			5,59	0,14
678	4	2	36			0,96	0,12
679	4	1	24			3,07	0,46
664	4	1	84			0,41	0,19
665	4	1	32			0,63	0,06
232	4	2	14			5,07	0,08
233	4	1	14			1,76	0,06
757	4	1	24			11,05	0,2
756	4	1	32			8,16	0,46
732	4	1	36			0,5	0,08

683	4	2	18			0,7	1,06
682	4	2	48			1,74	0,11
681	4	1	24			0,58	0,07
680	4	1	36			2,9	0,04
675	4	2	36			0,8	0,15
669	4	2	36			1,35	0,08
670	4	1	36			0,88	0,07
671	4	1	47			6,21	0,58
206	4	1	36			2,13	0,1
663	4	2	34			4,39	0,14
684	4	2	26			0,6	0,77
226	4	1	52			7,83	0,06
227	4	1	44			3,72	0,27

ÜRETEROPELVİK BİLEŞKE OBSTRÜKSİYONU PATOGENEZİNDE İDRAR KASPAZ-3 VE SİTOKROM C DÜZEYLERİNİN ÖNEMİ

ORJİNALLIK RAPORU

% 7	% 7	% 2	%
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 2
2	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	% 1
3	dspace.gazi.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
4	ipfs.io İnternet Kaynağı	<% 1
5	library.cu.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
6	doczz.net İnternet Kaynağı	<% 1
7	uroturk.org.tr İnternet Kaynağı	<% 1
8	utsakcongress.com İnternet Kaynağı	<% 1
9	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1