

T.C
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HAFSA SULTAN
HASTANESİ ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

VEZİKOÜRETERAL REFLÜLÜ HASTALARDA
ANJİYOTENSİN-2 TİP₁/TİP₂ GEN POLİMORFİZM DAĞILIMI
ve mRNA DEĞERLERİ İLE GENOTİP-FENOTİP İLİŞKİSİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Şebnem ŞAHİN

Tez Danışmanı
Prof.Dr.Pelin ERTAN

Manisa, 2013

ÖNSÖZ

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları uzmanlık tezimi hazırlamamda emeğini ve yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım değerli hocam Prof. Dr. Pelin ERTAN'a, uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini bizlerle paylaşarak eğitimimize katkıda bulunan başta kliniğimiz Ana Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Hasan Erhun KASIRGA olmak üzere tüm hocalarıma teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Tezimin genetik verilerinin elde edilmesi aşamasında emeği geçen hocam Prof. Dr. Afig BERDELİ'ye ve istatistiksel değerlendirmelerini yapan hocam Prof. Dr. Gönül DİNÇ HOROSAN'a teşekkür ederim.

Asistanlığım süresince beraber çalıştığım ve tezimin hazırlanması aşamasında yardımlarını esirgemeyen asistan arkadaşlarıma, tecrübelerinden yararlandığım uzmanlarıma ve klinik çalışanlarına teşekkür ederim.

Tüm eğitim hayatım boyunca her daim yanımda olduklarını hissettiğim değerli anneme, babama ve ablama, zor anımda yanımda olmaktan vazgeçmeyen, sevgi ve desteğini esirgemeyen değerli eşim Sertaç ŞAHİN'e sonsuz teşekkürler.

Dr. Şebnem ŞAHİN

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLolar ve ŞEKİLLER	IV
SİMGELER ve KISALTMALAR	VI
ÖZET	VIII
İNGİLİZCE ÖZET	X
	SAYFA
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. VEZİKOÜRETERAL REFLÜ	3
2.1.1. Tarihçe	3
2.1.2. İnsidans	4
2.1.3. Cinsiyet Dağılımı ve Yaş	4
2.1.4. Ailesel Dağılım ve Genetik	5
2.1.5. Etyoloji	6
2.1.6. Sınıflandırma ve Derecelendirme	9
2.1.7. Klinik ve Tanı	10

2.1.8. Reflü Nefropatisi	11
2.1.9. Renal Skar Patogenezi	14
2.1.10. Renal Skar Moleküler Temeli	17
2.1.11. Vezikoüreteral Reflü Komplikasyonları	20
2.1.12. Vezikoüreteral Reflünün Seyri	21
2.1.13. Vezikoüreteral Reflü Genetiği	21
2.2. RENİN- ANJİYOTENSİN SİSTEMİ	22
2.2.1. Anjiyotensin-2 Tip ₁ /Tip ₂ Gen Polimorfizmleri	22
3. GEREÇ ve YÖNTEM	25
3.1. Radyolojik Yöntem ve Tekrarlayan İdrar Yolu Enfeksiyonu Tanısı	25
3.2. DNA İzolasyonu ve Gen Polimorfizmlerinin Saptanması	26
3.3. Anjiyotensin-2 mRNA Belirlenmesi	32
3.4. İstatistiksel Analiz	32
4. BULGULAR	34
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇ	48
7. KAYNAKLAR	50

TABLolar ve ŞEKİLLER

ŞEKİL 2.1. Üreterin Mesane İçerisindeki Submukozal Seyri

ŞEKİL 2.2. Üreterin Submukozal Yerleşimine Göre VUR Sıklığı

ŞEKİL 2.3. VUR'un Uluslararası Sınıflandırılması

ŞEKİL 2.4. VUR'da Enfekte İdrar ve Skar Gelişimi

ŞEKİL 2.5. İntrarenal Reflüde Renal Papilla Yapıları

ŞEKİL 2.6. Akut Pyelonefrit ve Renal Skar Patogenezi

ŞEKİL 2.7. Renal Skar Gelişmesinde Ang-2, AT1R ve AT2R

ŞEKİL 3.1. AT1R Gen Polimorfizm Jel Elektroforez Görüntüsü

ŞEKİL 3.2. AT2R Gen Polimorfizm Jel Elektroforez Görüntüsü

TABLO 2.1. T.İYE'li Hastalarda VUR İnsidansı

TABLO 2.2. VUR Nedenleri

TABLO 2.3. ^{99mTC}DMSA ile Renal Skarın Sınıflandırılması

TABLO 2.4. Reflü Evresi ile Skar Arasındaki İlişki

TABLO 4.1. VUR Hasta Grubunun Özellikleri

TABLO 4.2. T.İYE Hasta Grubunun Özellikleri

TABLO 4.3. VUR, T.İYE ve Kontrol Grubu Arasında Yaş, Cinsiyet Karşılaştırılması

TABLO 4.4. Total VUR, VUR Skar (+), VUR Skar (-) ve Kontrol Grubunda AT1R/AT2R Gen Polimorfizm İlişkisi

TABLO 4.5. Total T.İYE, T.İYE Skar (+), T.İYE Skar (-) ve Kontrol Grubunda AT1R/AT2R Gen Polimorfizm İlişkisi

TABLO 4.6. VUR, T.İYE ve Kontrol Grubunda A/C Allel Sıklığının Karşılaştırılması

TABLO 4.7. VUR, T.İYE ve Kontrol Grubunda A/G Allel Sıklığının Karşılaştırılması

SİMGELER VE KISALTMALAR

VUR	Vezikoüreteral Reflü
HT	Hipertansiyon
KBH	Kronik Böbrek Hastalığı
İYE	İdrar Yolu Enfeksiyonu
T.İYE	Tekrarlayan İdrar Yolu Enfeksiyonu
RN	Reflü Nefropatisi
RAS	Renin Anjiyotensin Sistemi
ACE	Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
Ang-1	Anjiyotensin-1
Ang-2	Anjiyotensin-2
AT1R	Anjiyotensin-2 Tip ₁ Reseptör
AT2R	Anjiyotensin-2 Tip ₂ Reseptör
PUV	Posterior Üretral Valv
MSUG	Miksiyosistoüreterografi
^{99mTC}DMSA	Dimerkaptosüksinik Asit
TGF-B	Transforming Growth Faktör-Beta
IFN-gama	İnterferon- gama
ECM	Ekstrasellüler Matriks
PAF	Trombosit Aktive Edici Faktör
IL-1	İnterlökin-1

IL-4	İnterlökin-IV
IL-6	İnterlökin-6
IL-10	İnterlökin -10
MCP-1	Makrofaj Kemoatraktan protein-1
RANTES Secreted	Regulated Upon Activation, Normal T cell Expressed and
MİF	Makrofaj Migrasyon İnhibitör Faktör
OPN	Osteopontin

ÖZET

Anatomik ve fonksiyonel nedenlerle üreterovezikal birleşim yerindeki yetersiz valvüler mekanizmaya bağlı olarak, idrarın işeme esnasında üreterlere ve böbreklere geri kaçıışı vezikoüretal reflü (VUR) olarak adlandırılır. Renal skar ve reflü nefropati (RN) gelişiminde son yıllarda yapılan çalışmalarda genetik faktörler üzerinde durulmaktadır. En iyi bilineni renin-angiotensin sistemi ile ilgili yapılan çalışmalardır. Angiotensin Tip₁/Tip₂ reseptör gen polimorfizmlerinin (AT1R/AT2R) renal parankim hasarında rol oynadığı bildirilmektedir. Çalışmamızın amacı, AT1R/AT2R gen polimorfizmlerinin, VUR'lu hastalardaki rolünün araştırılmasıdır. Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Çocuk Nefroloji polikliniğine başvuran, T.İYE tanısı alan renal skar (+) 25 / renal skar (-) 25 hasta, VUR tanısı alan renal skar (+) 25 / renal skar (-) 25 hasta ile 50 sağlıklı çocuk çalışmaya dahil edildi. İYE hasta grubunun 23 'ü erkek, 27'si kız, yaş ortalaması 6,9±3,0'dı. VUR'lu hastaların 22'si erkek 28'i kız hasta olup yaş ortalaması 7,3±2,9 olarak değerlendirildi. Nörojenik mesane, alt üriner sistem obstrüksiyonu, çift toplayıcı sistem ve ektopik böbrek gibi sekonder reflülü hastalar ve ek üriner malformasyonlar çalışma dışı bırakıldı.

AT1R gen polimorfizmi değerlendirildiğinde T.İYE olgularında AC genotipi kontrol grubuna göre 2,7 kat yüksek ve CC genotipi kontrol grubuna göre 6 kat yüksek değerlendirilmiş olup istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). İYE skar (-) grupta, AC genotipi kontrol grubuna göre 3,6 kat yüksek ($p<0,05$) ve İYE skar (+) grubunda CC genotipi kontrol grubuna göre 9,9 kat yüksek ($p<0,05$) olup istatistiksel olarak anlamlı değerlendirildi. T.İYE grubunda C Allel sıklığı (%38,0) kontrol grubuna göre (%19) daha yüksek değerlendirildi ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). VUR skar (-) grupta AC genotipi kontrol grubuna göre 3 kat yüksek olup istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). AT2R gen polimorfizmi değerlendirildiğinde T.İYE grubunda GG genotipi, kontrol grubuna göre 3,2 kat yüksek olup istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). T.İYE grubunda G allel

sıklığı(%48,0),kontrol grubuna göre (%34,0) daha fazla değerlendirilerek istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$).

Çalışmamızda, AT1R/AT2R gen polimorfizmleri ile VUR'da skar gelişimi açısından anlamlılık bulunmazken,T.İYE'de reflüden bağımsız olarak, renal skar gelişiminde rol oynayabileceği değerlendirilmiştir.Bu durum VUR'da skar gelişiminde farklı genetik faktörlerin rolü olabileceğini düşündürmekle birlikte preliminer çalışma olarak daha fazla sayıda hasta popülasyonu ile desteklenmelidir.

ABSTRACT

Urine escape back to the ureters and kidneys during voiding, is called vesico-ureteric reflux (VUR), depending on the insufficient valvular mechanism around the ureterovesical junction, for the anatomical and functional reasons. Recent studies focus on genetic factors in the development of renal scarring and reflux nephropathy (RN). The best known studies are related to the renin-angiotensin system. It has been reported that Tip_1/Tip_2 Angiotensin2 receptor gene polymorphisms (AT1R/AT2R) play a role in renal parenchymal injury. The purpose of our study is to investigate the role of AT1R/AT2R gene polymorphisms, in the patients VUR.

Patients with the diagnosis of R.UTI renal scarring (+) 25 / renal scarring (-) 25, diagnosis with VUR renal scarring (+) 25 / renal scarring (-) 25 patients and 50 healthy children were included in the study, consulting in Pediatric Nephrology MD outpatient clinic. Including UTI group, 23 patients were male and 27 were female, with mean age of $6,9\pm 0,3$. 22 male and 28 female patients with VUR were evaluated, with a mean age of $7,3\pm 2,9$. Neurogenic bladder, lower urinary tract obstruction, patients with secondary reflux such as double collecting system and ectopic kidney and additional urinary tract malformations were excluded.

AC genotype and CC genotype had a significantly higher risk of IYE when compared to the control group ($p<0,05$). AC genotype among IYE scar (-) patients. CC genotype among IYE patients scar (+) were significantly higher when compared to the control group ($p<0,05$). C allele percentage is higher compared to control group AC genotype had a significantly higher risk of VUR scar (-) when compared to the control group ($p<0,05$). While AT2R gene polymorphism was evaluated, GG genotype in R.UTI group is 3.2 times higher than the control group and that is found statistically significant G allele percentage is higher compared to control group ($p<0,05$).

In our study, significance was not found for the AT1R/AT2R gene polymorphism with development of scar in VUR, also it was determined that, it plays a role in the development of renal scarring regardless of reflux at R.UTI. This situation suggests that different genetic factors may play a role in the development of scars in VUR, together with, which lasts for a preliminary study, that should be supported by a greater number of patient population.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İdrarın, üreterovezikal bileşke yetersizliğine bağlı olarak mesaneden üretere geri kaçıışı, Vezikoüreteral Reflü (VUR) olarak adlandırılır. VUR, multidisipliner yaklaşımlarla uygun tedavi ve takip gerektiren, tanıda gecikme ve yetersiz tedavi edilmesi durumunda büyüme-gelişme geriliği, hipertansiyon (HT), kronik böbrek hastalığı (KBH) gibi morbidite ve mortalitesi yüksek komplikasyonlar ile sonuçlanan çocuk nefroloji ve çocuk üroloji ünitelerinin en önemli hastalıklarından biridir (1).

Üreterovezikal bileşim yeri, idrarın mesane içine girmesine izin veren ve özellikle işeme sırasında idrarın üretere geri kaçışına engel olan bir valv mekanizmasına sahiptir. Bu şekilde böbrek hem mesane içindeki yüksek basınçtan, hem de enfekte mesane idrarıyla kontamine olmaktan korunur. Eğer bu valv mekanizması yetersiz ise idrar işeme esnasında ureterlere ve böbreğe doğru geri kaçar. Anatomik ve/veya fonksiyonel nedenlerle oluşan bu durum primer VUR olarak adlandırılır(2). VUR çocuklarda en fazla görülen ürolojik problem olup, sağlıklı çocuklarda insidansı %1-2 olarak tahmin edilmektedir(3,4). VUR ile tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonları (T.İYE) arasında güçlü bir ilişki bulunmaktadır. T.İYE sebebiyle değerlendirilen hastaların %30-50'sinde VUR saptanmıştır (5).

Primer VUR, İYE ve pyelonefrit gelişimi açısından önemli bir risk faktörüdür. Gelişen akut ve kronik pyelonefrit atakları renal skar gelişmesine neden olur. Primer VUR ile birlikte bir veya her iki böbrekte pyelonefrit gelişmesi reflü nefropatisi (RN) olarak tanımlanır (6). Ülkemizdeki KBH'nin en sık sebebi, kronik pyelonefritler ve VUR zemininde gelişen RN'dir (6,7).

RN ve renal skar gelişimi açısından, son yıllarda genetik faktörler üzerinde durulmaktadır. Bu genetik faktörlerden en iyi bilinenleri, renin-anjiyotensin sistemi (RAS), Anjiyotensin-1 (Ang-1) ve Anjiyotensin-2 (Ang-2) gen polimorfizmleri üzerinde yapılan çalışmalardır.

RAS, kardiyovasküler, sıvı ve elektrolit homeostazisin önemli bir düzenleyicisidir. Aynı zamanda renal ve somatik büyümede, anjiyogeneziste önemli rol oynar. Potent oktapeptid Ang-2, etkilerini anjiyotensin-2 Tip₁/Tip₂ reseptörler (AT1R/AT2R) aracılığı ile gösterir. Çeşitli deneysel çalışmalarda mezenşimal hücrelerde yüksek Ang-2 seviyelerinin glomerüler yüzey alanında azalmayla sonuçlanan mezenşimal fibrozisi indükleyebileceği gösterilmiştir. Ayrıca Ang-2 aşırı ekspresyonunun tubüler hücre hipertrofisi ve hiperplazisine neden olarak ekstrasellüler matriks proteinlerinin artışına yol açtığı düşünülmektedir(6,7). RN'deki primer lezyon tübülointerstisyel alanı içerdiğinden, Ang-2'nin RN oluşumunda rol oynayabileceği düşünülmüştür.

Bizim çalışmamızın amacı, ülkemizde çocuk yaş grubunda KBH'nin en sık nedeni olan ve erken teşhis, düzenli takip ve yeterli tedavi ile engellenebilen T. İYE ile birlikte RN gelişiminde, Ang-2 Tip₁/Tip₂ gen polimorfizmlerinin rolünün olup olmadığının araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. VEZİKOÜRETERAL REFLÜ

Vezikoüretal reflü (VUR), idrarın mesaneden üst üriner sisteme geri kaçıışı olarak tanımlanan, KBH gibi ciddi komplikasyonları olan fonksiyonel ve anatomik bir bozukluktur. Üreterovezikal valv mekanizmasının yetersizliği, VUR'un altta yatan sebebidir. VUR'un doğal seyri T.İYE 'li hastaların klinik görünümünün iyi anlaşılması, etkilenmiş çocukların verilerine dayanan prospektif çalışmaların sonuçları ile şekillenmeye devam etmektedir.

Primer VUR konjenital olup, temelinde altta yatan herhangi bir nöromusküler ve obstrüktif patoloji yoktur. Sekonder VUR ise,mesanenin nörojen kökenli bozuklukları, posterior üretral valv (PUV) gibi konjenital mesane obstrüksiyonlarının yol açtığı yüksek mesane basıncının sebep olduğu reflüdür.

VUR sadece renal hasara yol açmaz, aynı zamanda bakteriüri ile birlikte olan intrarenal reflü, bakterinin renal parankime invazyonuna neden olur. Bu nedenle küçük yaştaki reflülü hastalar, akut ve kronik pyelonefrit atakları açısından risk altındadırlar. Gelişen akut ve kronik pyelonefrit atakları renal skara ve sonrasında RN'sine yol açar (6). Ülkemizde, çocuk yaş grubundaki KBH'nın en önemli sebebi RN'dir.

VUR'da renal hasarı belirleyen en önemli sebepler, hastanın yaşı, T.İYE sayısı, geçirilen pyelonefrit atakları, reflü evresi ve tedavi gecikmesidir. İdrarın steril olmasının RN'yi engelleyebilceğinin anlaşılması, reflünün çocuğun gelişimiyle birlikte spontan düzeldiğinin görülmesi, konservatif izlem protokollerinin oluşmasını sağlamıştır. Böylece reflünün cerrahi tedavisinde önemli ölçüde azalma olmuş, ayrıca cerrahide alternatif endoskopik yöntemler gündeme gelmiştir (6).

2.1.1 Tarihçe: MS. 1. yy'da Galen ve sonrasında Leonardo da Vinci, normal bir üreterovezikal bileşkenin varlığından ve idrarın böbrekten tek yönlü akımından bahsetmişlerdir(8,9). Sampson(1903), çalışmalarında üreterin mesaneye girişinde eğimin oluşturduğu kapakçık mekanizmasını, 'üreterovezikal kilit' olarak

tanımlamıştır(8). Hutch(1952), paraplejik hastalarda reflü ve kronik pyelonefrit arasındaki nedensel ilişkiyi tanımlamıştır(11). Hudson(1959), Hutch'ın erişkinlerdeki gözlemlerini çocuklara uygulayarak reflünün İYE ve renal parankimal skarlı çocuklarda daha sık olduğunu belirtmiştir (12). Bu ilişkinin hayvan modellerindeki anatomik korelasyonu Tanagho ve ark. tarafından(1965) yayınlanmıştır (13). Ransley ve Risdon(1975), domuzlarda üreterin submukozal çatısını rezerke ederek reflü oluşturmayı başarmışlardır.

2.1.2.İnsidans: Sağlıklı çocuklarda VUR'un insidansı kesin olarak bilinmemekle birlikte %1-2 olarak tahmin edilmektedir(3,4). Çocuklar VUR olasılığı açısından iki durumda araştırılmalıdır. Bunlar, prenatal dönemde saptanan hidronefroz varlığı ve T.İYE öyküsüdür. Yapılan çalışmalarda, prenatal dönemde pelvis dilatasyonu saptanan olguların yaklaşık %10-40'ında VUR olduğu görülmüştür. Prenatal hidronefrozun araştırılması sırasında saptanan VUR genellikle ileri evredir ve erkek çocuklarda daha sıktır(14,15). T.İYE olan çocukların 1/3'ünde, infantların ise %50'sinde VUR saptanmıştır(16). Reflü olguların kardeşlerinde ise reflü saptanma olasılığının %30-50 arasında olduğu bildirilmektedir(18,19). VUR'lu hastaların çocuklarında otozomal dominant kalıttan bahsedilmektedir(17).

2.1.3:Cinsiyet Dağılımı ve Yaş: Hastalığın yaşlara göre insidansı, cinsiyetler arasında farklılık gösterir. Antenatal dönemde reflü saptanmış infantlarda erkek cinsiyet baskınlık gösterirken, ileri yaşlarda T.İYE araştırılması sonrası tanı konulan reflülü hastalarda, kız cinsiyet baskındır(20). İleri yaşlarda saptanan reflünün büyük çoğunluğunun (%85) kızlarda görülmesine karşın, T.İYE olan erkek çocuklarının bu anomaliye sahip olma olasılığı daha yüksektir(21). Erkek çocuklarının %25'inde belirtiler ilk 3 ayda ortaya çıkar(22). Özellikle ilk iki yılda yada antenatal hidronefrozun postnatal takibinde reflü tanısı konmuşsa, bu hastalar çoğunlukla daha ciddi derecede reflüye sahiptirler (22).

VUR tanısı, değerlendirilmekte olan çocuğun yaşıyla da ilişkilidir ve daha küçük yaşlarda daha yüksek insidansa sahiptir. Bazı çalışmalarda reflü varlığının,

T.İYE'si olan hastaların yaşlarıyla ters orantılı olduğu gösterilmiştir (23).

Tablo 2.1: T.İYE Olan Hastalarda Yaşlara Göre VUR İnsidansı

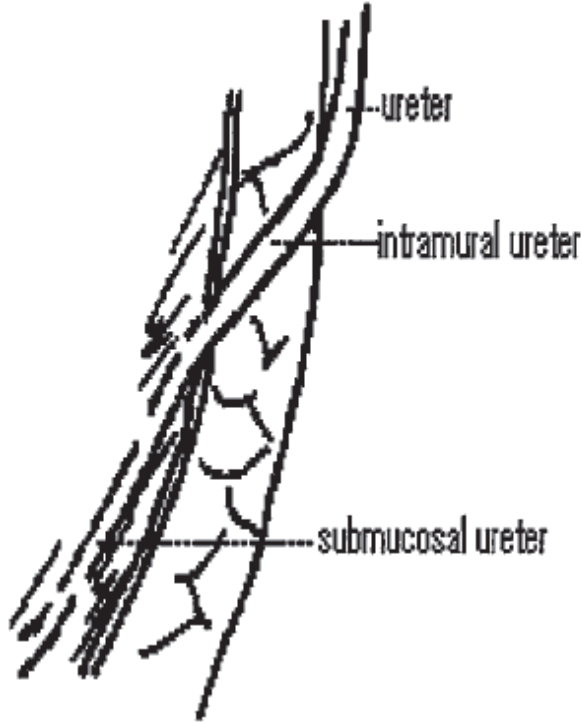
Yaş (yıl)	İnsidans %
<1	70
4	25
12	15
Erişkin	5,2

2.1.4:Ailesel Kalıtım ve Genetik :VUR, genitoüriner sistemin en sık görülen kalıtsal anomalisi olup multifaktöriyel bir etyolojiye sahiptir. VUR'un genetik komponentinin de olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda VUR'lu hastaların kardeşlerinde yaklaşık %45 oranında reflü bildirilmiştir(19,24) ve bunların %75'i asemptomatiktir. Bir çalışmada VUR'lu olguların birinci derece yakınlarında, VUR sıklığı %30-50 oranlarında bildirilmiştir(19). Reflü hastalarla kardeşlerinin reflü dereceleri ile ilişki saptanmamıştır.VUR semptomatik kardeşlerde saptandığında genellikle yüksek derecelidir ve renal skar görülme ihtimali yüksektir (25).

Yapılan bir çalışmada, reflü hikayesi olduğu bilinen 23 ebeveynden oluşan bir reflü grubunun 36 çocuğunun 24'ünde(%66) VUR saptanmıştır. Başka bir çalışmada tek yumurta ikizlerinin %80'inde ve çift yumurta ikizlerinin %35'inde reflü tesbit edilmiştir (23).

VUR'un genetiği tam olarak aydınlatılamamış olup, heterojenite içerir. Bu konuyla ilgili çalışmalar yapılmaya devam edilmektedir (27).

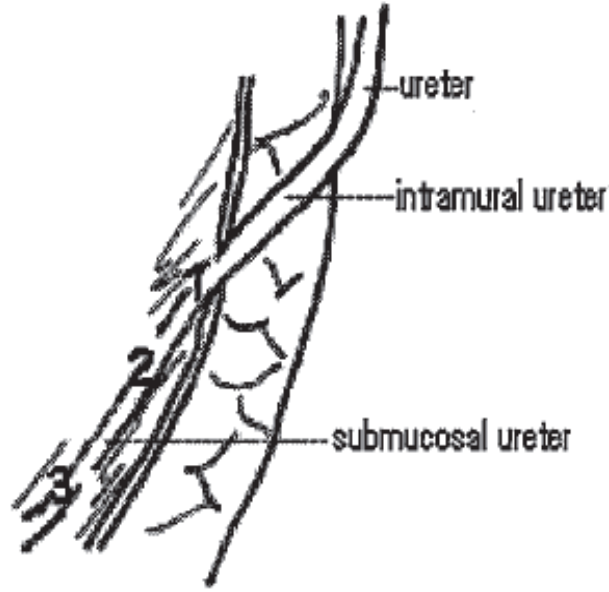
2.1.5. Etyoloji: Üreterin idrarı bolus olarak mesaneye gönderebilmesi için mevcut 3 kriterin tam olarak çalışması gerekmektedir. Birincisi, üreterin üç musküler tabakasının (iç longitüdünel, sirküler, dış longitüdünel) , bolusun oluşturduğu gerim refleksine efektif peristaltizm ile yanıt vermesidir. İkincisi mesane basıncı idrarın serbestçe akışına izin verebilecek kadar düşük olmalıdır. Son olarak üreterovezikal bileşke, mesane doluşu veya kontraksiyonu sonucu oluşan basınç artışı ile distal üreteri kapatmalıdır. Bu ‘flap-valv’ etkisini yaratmak için üreter mesaneye oblik olarak giriş yapmalı, tesbiti sağlamak için uygun musküler bağlantılar oluşturmalı ve oklüzyonu sağlamak için posterior kas desteğine ve yeterli submukozal uzunluğa sahip olmalıdır (23).



Şekil 2.1. Üreterin Mesane İçerisindeki Submukozal Seyri

Bu submukozal yerleşim ve longitudinal seyir, işeme anında mesane basıncı yükseldiğinde mesaneden üretere idrar kaçışını engellemektedir. Bu yapının yetersiz olduğu durumlarda (üreterotrigoal yetmezlik) VUR oluşmaktadır (şekil 2.2) . Bu yapısal bozukluğun sebebi, embriyojenik gelişim sırasında üreterik tomurcuğun

köken aldığı noktanın kökeni ile ilgilidir. Eğer üreterik tomurcuk, mezonefritik kanaldan mesaneye daha yakın bir konumdan köken alırsa sonuçta daha kısa submukozal tünel oluşacaktır (28,29). Üreterin intravezikal parçası yaşla ve çocuğun büyümesi ile uzar. Böylece etkinliği artan valv mekanizması ile VUR olasılığı azalır. Bu sebeple VUR daha küçük çocuklarda gözlenir ve görülme sıklığı yaşla beraber azalır.



- 1. Kuvvetle muhtemel VUR**
- 2. Muhtemel VUR**
- 3. VUR beklenmez**

Şekil 2.2: Üreterin Submukozal Yerleşimine Göre VUR Olasılığı

VUR, etyolojisine göre primer ve sekonder olarak sınıflandırılır. VUR, izole bir anomali (primer VUR) olabildiği gibi nörojenik mesane, obstruktif üropati, renal displazi gibi üriner sistem ve böbreğin diğer konjenital anomalileriyle birlikte ortaya çıkabilmektedir (sekonder VUR) (30).

Primer VUR, üreterin mesaneye, kapağı daha az efektif hale getiren konjenital olarak kısa bir tünelden girdiği tiptir. Embriyojenik gelişim sırasında üreterotrigonal bileşimin hatalı gelişimi sonucu oluşan yetersiz valvüler mekanizmanın neden olduğu reflüdür(31). Oluşumunda, genetik bir mutasyon sonucunda üreteral tomurcuğun anormal gelişiminin rol oynadığı düşünülmektedir (27,30).

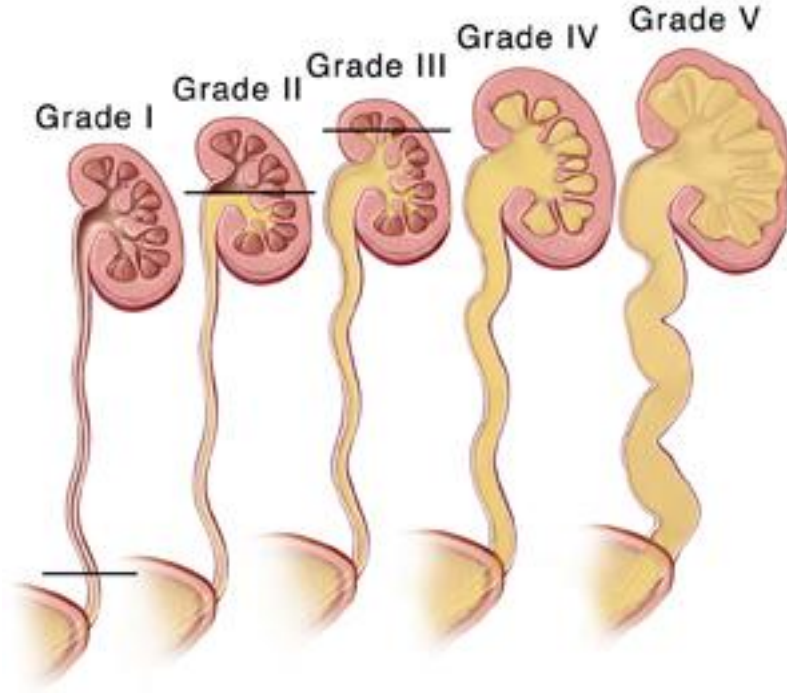
İntravezikal basınç artışı, nörojenik mesane, işeme disfonksiyonu, mesane çıkış obstrüksiyonları (posterior üretral valv), inflamasyonlar (sistit, yabancı cisim, ürolitiazis) sekonder VUR nedenleri arasında sayılabilir.VUR oluşum mekanizmaları tablo 2.2’de gösterilmiştir.

Tablo 2.2. VUR Nedenleri

Primer	Konjenital
Üreterovezikal bileşimdeki diğer patolojilerle birlikte	-Üreteral duplikasyon -Duplikasyonla birlikte üretrosel
-Mesane içi basınç artışına seconder	-Üreteral ektopi
-İnflamasyona sekonder	-Nörojenik mesane
-İatrojenik (cerrahiye sekonder)	-Mesane çıkış obstrüksiyonları

2.1.6.Sınıflandırma ve Derecelendirme: Bugün tüm dünyada, 1981 yılında *Uluslar Arası Reflü Çalışma Komitesi* tarafından düzenlenen sınıflandırma sistemi kabul görmektedir. Bu sınıflandırmaya göre, VUR geri kaçış şiddetine göre I-V arasında derecelendirilir (5). Derece I reflüde kontrast madde sadece üreterde görülür. Derece II reflüde üreter , pelvis ve kaliksler dolar, üreterde dilatasyon yoktur ve kaliks yapısı normaldir. Derece III reflüde üreter hafif veya orta derecede genişlemiştir, ayrıca pelviste de genişleme mevcut olup kaliksler normal veya hafif küntleşmiştir. Derece IV reflüde üreter geniş ve hafif kıvrıntılıdır, renal pelvis ve kaliksler de geniştir.

Derece V reflü de ise üreter çok geniş ve ileri derecede kıvrıntılıdır, renal pelvis ve kaliksler çok genişlemiştir.



Şekil 2.3. VUR'un Uluslararası Sınıflandırılması

Reflü, sistografide dinamik olarak görülen bir değişiklik olduğu için bunu derecelendirmek göreceli olmaktan kurtulamaz (23,30, 32,33).

2.1.7. Klinik ve Tanı: VUR'lu hastaların çoğu başlangıçta İYE semptomlarıyla başvururlar. Yenidoğanlarda semptomlar üriner sisteme özgü olmayıp kilo kaybı ve letarji tek bulgu olabilir. Süt çocukları ve küçük çocuklar, ateş, sık idrara çıkma, kötü kokulu idrar yapma, dizüri, bulantı, kusma yakınmalarıyla gelebilirler. Şikayetlerin genelde özgün olmaması nedeni ile İYE ve VUR gözden kaçabilmekte, sonuçta tanıya kadar geçen sürede parankimal hasar gelişebilmektedir.

Bir kez İYE geçiren çocukların ikinci kez İYE geçirme riski %60-85'tir ve bu olguların yarısı asemptomatiktir. T.İYE'li çocuklarda VUR sıklığı %30-50 arasında değişmektedir.İYE'li çocuklarda olguların radyolojik olarak değerlendirilme zamanı yaş, cinsiyet ve enfeksiyonun şiddetine göre değişmektedir. Birçok çalışmada İYE geçiren 5 yaş altındaki kız çocuklar ve herhangi bir yaştaki tüm erkek çocuklar, ateşli İYE ve pyelonefrit geçiren tüm çocuklar, ilk İYE olsa da radyolojik olarak değerlendirilmesi belirtilmiştir. VUR'un erkentanısı ve uygun tedavisi gelecekte oluşacak pyelonefrit sıklığını azaltırken, erken tanının renal skar insidansını da %30-60'dan %10-12'ye indirdiği bildirilmektedir (31,32).

Miksiyosistoüretrografi (MSUG), VUR tanısı için, pahalı ve invaziv bir işlem olmasına rağmen altın standarttır. MSUG için üreteral kateterizasyon ve fluoroskopi gereklidir. Özellikle mesanenin değerlendirilmesi, reflünün derecelendirilmesi, erkek çocuklarda posterior üretranın görüntülenmesi ve mesane çıkış obstrüksiyonlarının değerlendirilmesinde MSUG'un üstünlüğü tartışmasızdır. Aynı zamanda izlemdeki VUR'da düzelme olup olmadığını saptamak için de kullanılır (23,30,32).

Radyonüklid Sintigrafi, VUR için alternatif bir tanı yöntemidir ancak bazı avantajlarına rağmen MSUG'un yerini alamamıştır (34,35). En önemli avantajı daha uzun sürede daha az radyasyon uygulanarak hastanın değerlendirilmesidir. Böylece intermitant VUR'un saptanma olasılığı artar. Ancak düşük evreli reflüleri saptamada yetersizdir (35).

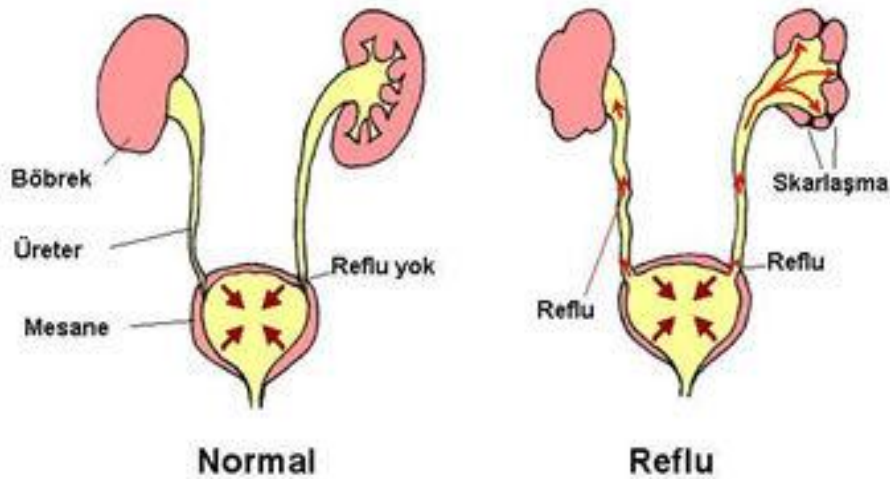
MSUG'a ek olarak her iki böbreğin görüntülenmesi, parankimin değerlendirilmesi ve diğer anomalilerin saptanması için tüm olgulara renal ultrasonografi (USG) yapılmalıdır. Non-invazivdir, radyasyon içermez ancak değerlendiren kişiye bağımlı olması en önemli dezavantajıdır.

2.1.8.Reflü Nefropatisi (RN): Hodson, T.İYE'li olup ve %97'sinde VUR saptanan çocuklarda yaptığı bir çalışmada, renal skarın önemini ilk fark eden araştırmacı olmuştur (36). 1960'dan beri VUR ve renal skar arasında ilişki olduğu bilinmesine rağmen bu ilişki henüz tam olarak aydınlatılamamıştır (40,41).

RN (atrofik pyelonefrit) terimi böbrekte reflü ile ilişkili bir takım değişiklikleri ifade eder. Bunlar, dilate ve distorsiyone kaliks üzerindeki renal parankimin fokal incilmesi, parankimal atrofi ile birlikte jeneralize kaliksiyel dilatasyon ve fokal skarlanma yada global atrofi ile ilişkili bozulmuş böbrek gelişimidir (37,38).

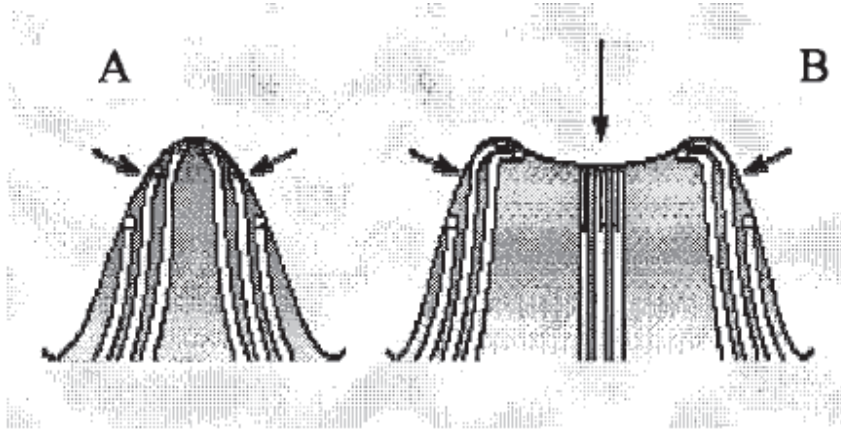
Skar, unilateral yada bilateral olabilir, böbreğin tamamını etkileyebileceği gibi, bir bölümünü de etkileyebilir. Çoğu zaman bir enfeksiyonla beraberdir. Ancak deneysel çalışmalar, VUR ve yüksek intravezikal basınç birlikteliğinin enfeksiyon olmadan da RN'ye yol açabildiğini göstermektedir (19).

Renal skar gelişiminin yaşamın erken yıllarında geçirilen pyelonefritle ilişkili olduğu düşünülmüş, 5 yaş özellikle de 3 yaş altı çocuklarda skar gelişim oranının daha yüksek olduğu görülmüştür(43,44). Bunun sebebi multifaktöriyel olup, en önemlisi bu yaş grubunda intrarenal reflünün daha sık olmasıdır(45). T.İYE'lerin erken çocukluk döneminde, non-spesifik semptomlarla seyretmesi ve bu nedenle tanı ve tedavide gecikme diğer önemli bir nedendir(46). VUR'un bakterinin mesaneden üstüriner trakta pasajını kolaylaştırarak renal hasara zemin oluşturduğu düşünülmektedir (şekil 2. 4).



Şekil 2.4. VUR'da Skar Gelişimi

Renal enfeksiyon sonucunda gelişen immünolojik ve inflamatuvar yanıtlar, renal skar oluşumunu desteklemekte ve böylece böbrek fonksiyonlarının azalmasına, böbrek büyümesinin yavaşlamasına, sonuçta böbrek yetmezliğine sebep olmaktadır. Ransley ve Ridson 'un yaptığı hayvan çalışmalarında, VUR ve enfeksiyon varlığında skar geliştiği, İYE saptanmayan ratlarda ise skar gelişmediği görülmüştür. Bu çalışmada skarın belirli alanlarda geliştiği görülmüş ve bununda farklı şekildedeki papillalardan kaynaklandığı anlaşılmıştır. İnsan böbreğinde basit ve bileşik olmak üzere 2 farklı yapıda renal papilla olduğu gösterilmiştir(47).



Şekil 2.5. İnrarenal Reflüde Renal Papilla Yapıları

A.Basit papilla (intrarenal reflü yok)

B.Birleşik papilla (intrarenal reflü var)

Birleşik papillaların düz veya konkav şekilli orifislerinin intrarenal reflüye izin verdiği ve böylece skar geliştiği, ancak konveks şekilli basit papillaların ise intrarenal reflüye izin vermemesi sebebiyle skar gelişmediği saptanmıştır (47). Böbrek dışı sebeplerle ölen VUR'lu çocukların post-mortem böbrek incelemelerinde de benzer sonuçlar bulunmuştur (48). İnsanlarda enfekte idrarın böbrekte birleşik papillalara reflüsü ile akut pyelonefrit geliştiği ve sonrasında renal skar geliştiği

gösterilmiştir(52).Yapılan çalışmalarda pyelonefrit sonrasında görüntülenebilen VUR olmaksızın da renal skar gelişebildiği bildirilebilmektedir (49,50,53). Bakteriler, üzerindeki p-fimbrialarıyla spesifik üreteral reseptörlere bağlanarak reflü olmaksızın da üst üriner sisteme ulaşabilir ve skar oluşumuna sebep olabilir (51). Pyelonefrit geçiren hastalarda sistit veya asemptomatik bakteriüri tanısı alan hastalarla karşılaştırıldığında yüksek oranda p fimbriyalı E.Coli suşları izole edilmiştir (52,54). Bununla beraber akut pyelonefrit ve renal skar için en önemli risk faktörü VUR'dur.

Renal skarın değerlendirilmesi için altın standart, Teknesyum -99 ile işaretlenmiş dimerkaptosüksinik asit (99mTc DMSA) sintigrafisidir. 99mTc DMSA ile skar alanları görülebileceği gibi, böbreklerin diferansiyel fonksiyonları hesaplanır ve akut enfeksiyonlardaki hipoaktif alanlar değerlendirilir. 99mTc DMSA ile aynı zamanda renal skar sınıflandırılabilir (112) (Tablo 2.3).

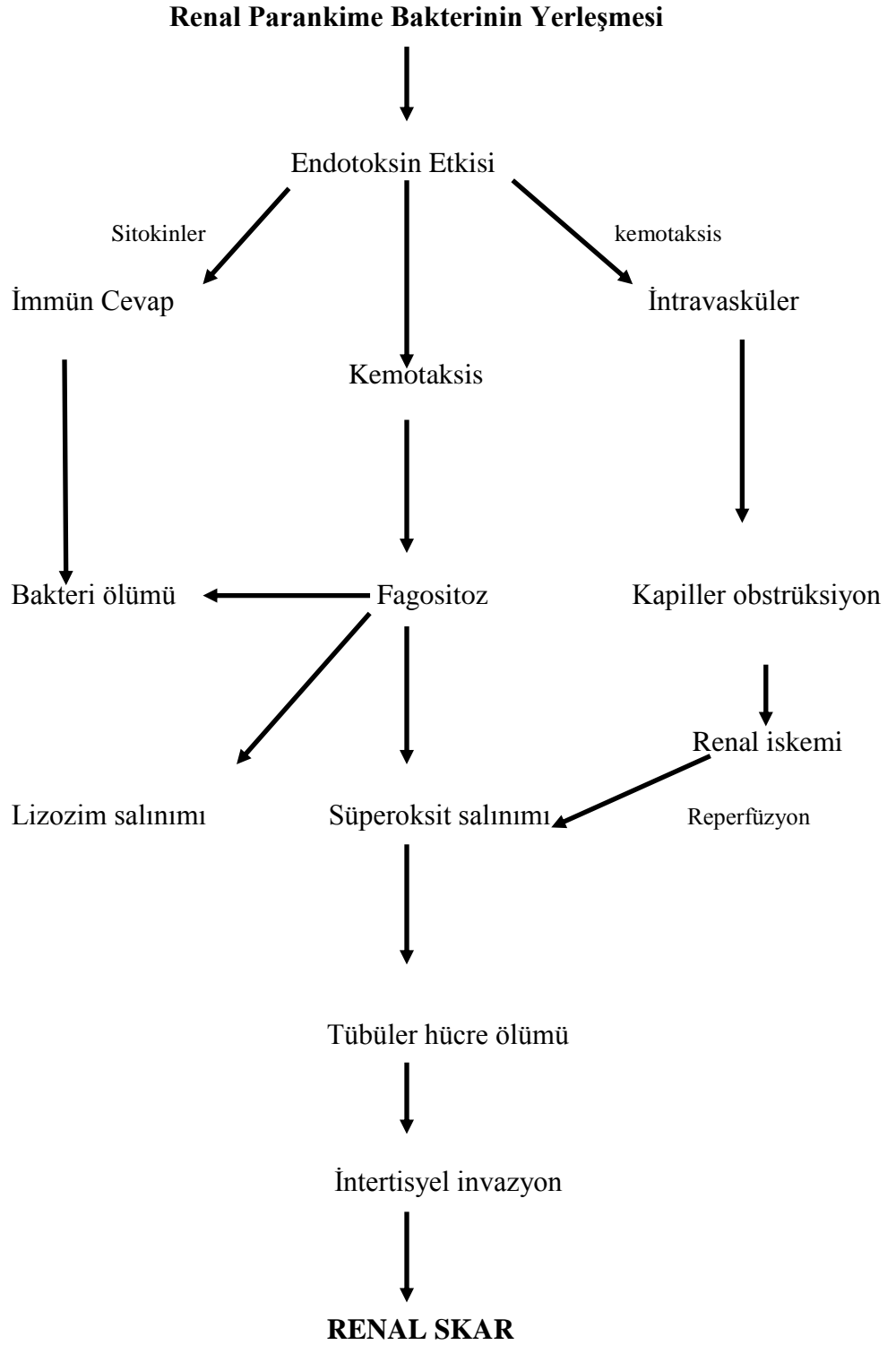
Tablo 2. 3. 99mTc DMSA ile Renal Skarın Sınıflandırılması

Tip 1 Renal Skar	İkiden daha az sayıda skar alanı
Tip 2 Renal Skar	İkiden daha fazla sayıda skar alanı Aralarındaki parankim sağlam
Tip 3 Renal Skar	Generalize hasar
Tip 4 Renal Skar	Büzüşmüş veya atrofik böbrek

2.1.9. Renal Skar Patogenezi : VUR ile birlikte renal skar birkaç mekanizma ile açıklanmaktadır. Bunlardan birincisi anormal renal gelişim ve dolayısı ile displaziye sebep olan embriyonel üreteral tomurcuktur. Diğerleri reflünün sebep olduğu basınç etkisi, buna muhtemel oluşan immünolojik cevap, üçüncüsü ise duyarlı renal paillaya enfekte idrarın reflüsü ve bunun yol açtığı inflamatuvar cevap ve renal parankimal hasardır.

Roberts'in yaptığı hayvan çalışmalarında bakterinin eradikasyonu için oluşan inflamatuvar yanıtın aynı zamanda renal dokuda erken pyelonefritik yanıtın ve skarın oluşmasına neden olduğu gösterilmiştir(55). Bu çalışma sonrasında akut pyelonefrit ve skar gelişmesinde patojenik zinciri açıklayan bir teori geliştirilmiştir (şekil 6). Bu teoriye göre başlangıçta bakterinin renal parankime yerleşmesi, hem immün hem de inflamatuvar yanıtı ortaya çıkarmaktadır. Bakterinin yerleşmesi skar gelişmesine neden olmazken gelişen süreçte ortaya çıkan akut inflamatuvar yanıt, kalıcı renal hasar gelişmesinde kritik rol oynamaktadır.

Bakteriyel endotoksininin, komplemanı aktive etmesi ile inflamatuvar yanıt tetiklenir. Bunu takiben enfeksiyon alanına granülositlerin kemotaktik migrasyonu gerçekleşir. Bakterilerin fagositozu ve öldürülmesi, granülositlerdeki ve renal tübül lümenlerindeki toksik enzimlerin (lizozim) salınmasına neden olur ve renal hasar meydana gelir. Bu sırada ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri, renal tübül hücreleri üzerine toksik etki yapar(56). Renal parankimin bakteriyel enfeksiyonu intravasküler granülosit agregasyonu ve ödem sonrasında fokal parankimal iskemi meydana gelir. Sonuçta pyelonefritin ortaya çıkardığı intertisyel hasar, iskemi ve toksik enzimlerle ilişkilidir ve renal hasarın meydana gelmesini sağlar (şekil2.6).



Şekil 2.6. Akut Pyelonefrit ve Renal Skar Patogenezi

Reflünün böbreğe zarar vermesi için kesin yol, intrarenal reflünün varlığıdır (57).Oluşan intrarenal reflünün hidrostatik basıncı,böbrek papilla yapısının intrarenal reflüye yol açma yatkınlığı, idrarın enfekte olup olmaması böbrekte oluşan skarın şiddetinde belirleyici rol oynamaktadır. İntrarenal reflünün 45mmHg üstünde olduğu ve uzun sürdüğü durumlarda idrarın steril olmasına rağmen VUR reflüye sebep olmaktadır. İntrarenal reflü ,idrar steril olduğunda çok uzun dönemde ve ancak yüksek basınçlı olduğu zaman progresif skar gelişimine sebep olurken , enfeksiyon varlığında çok daha hızlı renal skar gelişimi söz konusudur.

VUR'un evresi ile renal skar arasındaki ilişki de iyi bilinmektedir (58,59). İleri evre VUR'lu olguların ilk İYE'lerini takiben yapılan değerlendirmelerinde %60 oranında renal skar saptanmıştır (60). Bununla beraber düşük evre VUR'da da renal skar gelişebilir. VUR, T.İYE ataklarına yol açarak skar oranını artırmaktadır.Yapılan bir çalışmada reflü evresinin arttıkça renal skar oranının da arttığı görülmüştür (61) (tablo 2.4).

Reflünün Evresi	Skar (%)
1	5
2	6
3	17
4	25
5	50

Tablo 2. 4. Reflünün Evresi ile Skar Arasındaki İlişki

2.1.10. Renal Skar Moleküler Temeli: Böbreğin total hacminin %80'ini tübülointertisyel kompartman oluşturmaktadır. Bu sebeple intertisyel fibrozisin fibrozisinderecesi ile renal fonksiyon kaybı arasında kuvvetli bir korelasyon mevcuttur.Bütün ilerleyici böbrek hastalıkları,destrüktif fibrozis sonucudur (66). Skar formasyonu için esas olan, böbrekteki inflamatuvar yanıt ve sonrasında gelişen doku hasarıdır(68).Akut pyelonefrit sırasında gelişen ilerleyici böbrek hasarı dokuda

lökositlerin, makrofajların ve bakteriyel antijenlerin bulunmasına bağlıdır(69,70). İnflamasyonun akut dönemi, dolaşımdaki lökositlerin, makrofajların ve renal parankimal hücrelerin tetiklediği pro-inflamatuvar sitokinler ve büyüme faktörlerinin aktivasyonu ile karakterizedir.Kronik dönemde ise kollajenin ve ekstrasellüler matriks (ECM) proteinlerinin hasarlı dokuda aşırı birikmesi söz konusudur ve bunu takiben skar dokusu gelişir (67).

Transforming growht faktör beta (TGF-B), iyileşme sürecinde ve fibroziste en önemli dengeleyici büyüme faktörüdür. Normalde iyileşme süreci tamamlandığında TGF-B, feed-back mekanizması ile durdurulur. TGF-B üretiminin devam etmesi ise ECM proteinlerinin aşırı birikmesi ve fibrozis ile sonuçlanır (71). TGF-B'nın tübülointertisyel ekspresyonunun şiddeti ile intertisyel fibrozisin evresi ve böbrek fonksiyon kaybı arasında yakın ilişki olduğu gösterilmiştir (72). TGF-B, Ang-2, trombosit aktive edici faktör (PAF) ve bir çok faktör tarafından stimüle edilir (73,74).

Sitokinler, hücreler arasında iletişimi sağlayan solubl polipeptitlerdir. Spesifik reseptörlerine bağlanarak çok değişik immün mekanizmaları düzenlerler. Bakteriyel infeksiyonlara cevap olarak salınan sitokinlerin hastalığın semptom ve bulgularını ortaya çıkaran sistemik ve lokal etkileri vardır. Kan basıncının artması ve vücut ısısının yükselmesi sistemik etkileri iken, inflamatuvar hücrelerin inflamasyon bölgesine gelmesi, toksik ürünlerin birikmesi ve doku hasarlanması ise lokal etkileridir (70). İnterlökin-1 (IL-1), İnterlökin-6 (IL-6), Tümör Nekrozis faktör-alfa (TNF-alfa),interferon-gama(IFN-gama) pro-inflamatuvar sitokinler olup, enfeksiyonların başlangıcındaki inflamatuvar yanıtta sorumludurlar. İnterlökin-4 (IL-4) ve interlökin-10 (IL-10), immün yanıtı inhibe eden ve böylece inflamatuvar reaksiyon sırasında doku hasarlanmasını azaltan anti-inflamatuvar sitokinlerdir.

Kemokinler, hasarlı dokuya, lökosit migrasyonuna katkıda bulunan düşük moleküler ağırlıklı kemotaktik proteinlerdir (34). Makrofaj kemoatraktan protein-1 (MCP-1), 'Regulated upon activation, Normal T cell expressed and secreted'

(RANTES), endotelin, makrofaj migrasyon inhibitör faktör (MİF) ve osteopontin (OPN) , renal fibroziste rol alan kemokinlerdir (75,76).

Tübüler epitelyum hücreler,çeşitli sitokinler ve proteinüri ile indüklenebilen, intertisyel infiltrasyon gelişmesinde çok önemli bir yere sahip olan hücrelerdir. İnflamasyonu artırıcı etki gösteren, sitokin, kemokin ve hücre adezyon molekülünü salgırlar.

Fibroblastların, lokal intertisyel hücrelerden kaynaklandığı ve fibrozis sırasında alfa düz kas aktini gibi düz kas hücrelerine benzer özellikler kazandığı ve myelofibroblastlara dönüştüğüne inanılmaktadır. Fibrotik böbrekteki fibroblastların mitotik aktiviteleri yüksektir. Bu fibroblastlarda kollejen üretimi 3-4 kat artmıştır ve bunlardan renal fibrogeniz sırasında tübül epitelyum hücreleri ve EMC üretilebilmektedir (77).

Fibrogeniz: İntertisyel matriks, kollajen,fibronektin ve proteoglikanlardan oluşmaktadır. Fizyolojik durumda matriks yapımı,yıkımı denge halinde bulunurken, yapım artışı ve yıkım azalması fibrozisle sonuçlanır(75). Fizyolojik olarak yara iyileşmesi, indüksiyon, matriks depolanması ve rezolüsyon olmak üzere üç evreye ayrılır. İlk fazda hücre büyüme artışı ve matriks üreten hücre proliferasyonu söz konusudur. Matriks evresinde ortaya çıkan ilk adeziv protein fibronektindir ve bu fibroblastlar için güçlü kemotaktiktir. Rezolüsyon evresinde matriks yapımı yavaşlar ve yıkım artar. Renal fibrozis patofizyolojisinde farklı olarak primer inflamatuvar süreç sona ermiş olmasına rağmen, ECM proteinlerinin sentezinin artmaya devam etmesidir. Bu durum fibroblastların otonomi kazanması ile açıklanmaktadır.

Tablo 2.5 : Renal Fibrojeniz Aşamaları

<p>1.İndüksiyon</p> <p>Tübülointertisyel hücre infiltrasyonu</p> <p>Pre-inflamatuvar sitokin salınımı</p> <p>Fibroblast aktivasyonu ve salınımı</p> <p>2.İnflamatuvar Matriks Sentezi</p> <p>Pre-inflamatuvar sitokin salınımının devamı</p> <p>Matriks sentez ve depolanmasının artması</p> <p>Matriks yıkımının azalması</p> <p>3.Post-inflamatuvar Matriks Sentezi</p> <p>İnflamatuvar uyarının sonlanması</p> <p>Myofibroblastların otokrin stimülasyonu</p> <p>Devam eden matriks sentez ve depolanması</p>

2.1.11.VUR Komplikasyonları:HT, renal fonksiyon bozukluğu ve KBH, RN'nin uzun dönemdeki komplikasyonlarıdır. Çocuk ve genç erişkinlerdeki HT'nin en sık nedenlerinden bir RN'dir . Jacobson ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada RN'li hastalarda %23 oranında HT geliştiğini göstermişlerdir (62). Vallee ise HT'li hastaların %4'ünden RN'nin sorumlu olduğunu bildirmiş, bu oranın düşüklüğünden son 20 yılda reflü tarama ve tedavi yöntemlerinin gelişmesini sorumlu tutmuştur (63). Ayrıca kronik pyelonefrite sekonder gelişen HT'nin RAS'ın sorumlu olduğunu bildirmiştir. Skar gelişmiş hastalarda VUR düzeltilse bile HT riski değişmemektedir (64).

KBH, RN'nin ciddi komplikasyonlarından biridir. Jacobson , RN nedeniyle izlediği hastaların %10'unda KBH geliştiğini bildirmiştir (62). Gelişmiş ülkelerde RN'nin KBH etyolojisinin %1 'inden sorumlu olduğu yayınlar çıkarkan gelişmekte

olan ülkelerde bu oranın %15-20 arasında olduğu bildirilmektedir.Şirin ve ark.yaptığı bir çalışmada KBH tanısı ile izlenen çocukların etyolojisinin %32'sinden RN'nin sebep olduğu saptanmıştır (7).

2.1.12. VUR'un Seyri: VUR birçok hastada spontan düzelme eğilimindedir. Ancak spontan düzelme oranını VUR'un saptandığı yaş ve reflü derecesi doğrudan etkilemektedir.Bu spontan düzelme iki teori ile açıklanmaktadır.Birinci teori, somatik büyüme ile beraber üreterin intravezikal kısmının ve longitudinal kas tabakasının uzaması, ikinci teori ise özellikle yenidoğanlardaki küçük kapasiteli hiperrefleksif mesane dinamiğinin çocuğun gelişimiyle birlikte geniş kapasiteli ve düşük basınçlı hale gelmesidir.

Skoog ve ark., beş yıllık izlem sonunda uzun dönem profilaksi ile derece I-III VUR'lu hastaların %80 oranında spontan düzeldiğini saptamıştır(64).Yüksek dereceli VUR'lu hastalarda spontan düzelme oranı daha düşüktür. *Birmingham Reflux Study Group*, 5 yıllık izlem sonunda derece III ve üzerindeki VUR'lu hastaların %50'sinin spontan düzeldiğini bildirmiştir (65).Burge ve ark. antenatal tanı VUR hastalarının 3 yıllık izleminde %54'ünde spontan düzelme saptamışlardır. VUR görülme sıklığı yaş küçüldükçe artmakla beraber bu çocuklarda VUR derecesinden bağımsız olarak düzelme şansı daha yüksektir (65). Cinsiyetin VUR'un spontan düzelmesi üzerine etkisi gözlenmemiştir. İzlem sonucunda inatçı reflünün tedavisi cerrahidir.

2.1.13.VUR Genetiği: VUR, ailesel bir hastalık olarak bilinmesine rağmen, genetik alt yapısı tam olarak aydınlatılamamıştır.80'li yılların başından beri VUR'un tek dominant bir genle kalıtılan familyal bir hastalık olduğu bilinmektedir. Bu genin görülme sıklığı 1/600 olup, bu durumda VUR'un insanlarda en sık görülen kalıtsal hastalık olduğu düşünülmektedir (78).

VUR'un genetik lokusunun HLA kompleksi üzerinde olduğunu düşünen bir çalışmada, bu bölgedeki genlerin mutasyonu ile VUR arasında zayıf kanıtlar

görülmüştür(79).Yine yapılan başka bir çalışmada renal ve üreterik malformasyonlar lokusu olarak bilinen 6p ve renal kolobom sendromunda VUR'a sebep olan PAX-2 mutasyonları ile ailesel VUR arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır (80).

VUR'a sekonder gelişen ve RN olarak bilinen renal skar gelişiminde de genetik faktörler üzerinde durulmaktadır. RAS, AT1R ve AT2R gen polimorfizmi ile VUR'daki renal skar arasında bağlantılar araştırılmış, ancak anlamlı sonuç elde edilememiştir. Ayrıca, ACE (Anjiyotensin dönüştürücü enzim) gen I/D polimorfizmi ile VUR arasındaki bağlantılar son yıllarda gündemdedir ancak sonuçlar çelişkilidir (81,82). Bazı çalışmalarda D alleli VUR'lu hastalarda renal skar gelişimi için anlamlı bir risk faktörü olarak bildirilmiştir(81). Ancak başka bir çalışmada reflülü hastalarda D allelini hipertansiyon gelişimi açısından anlamlı bir risk faktörü olarak bulunmuş ve renal skar gelişimi açısından anlamlı bir risk faktörü olarak değerlendirilmemiştir.

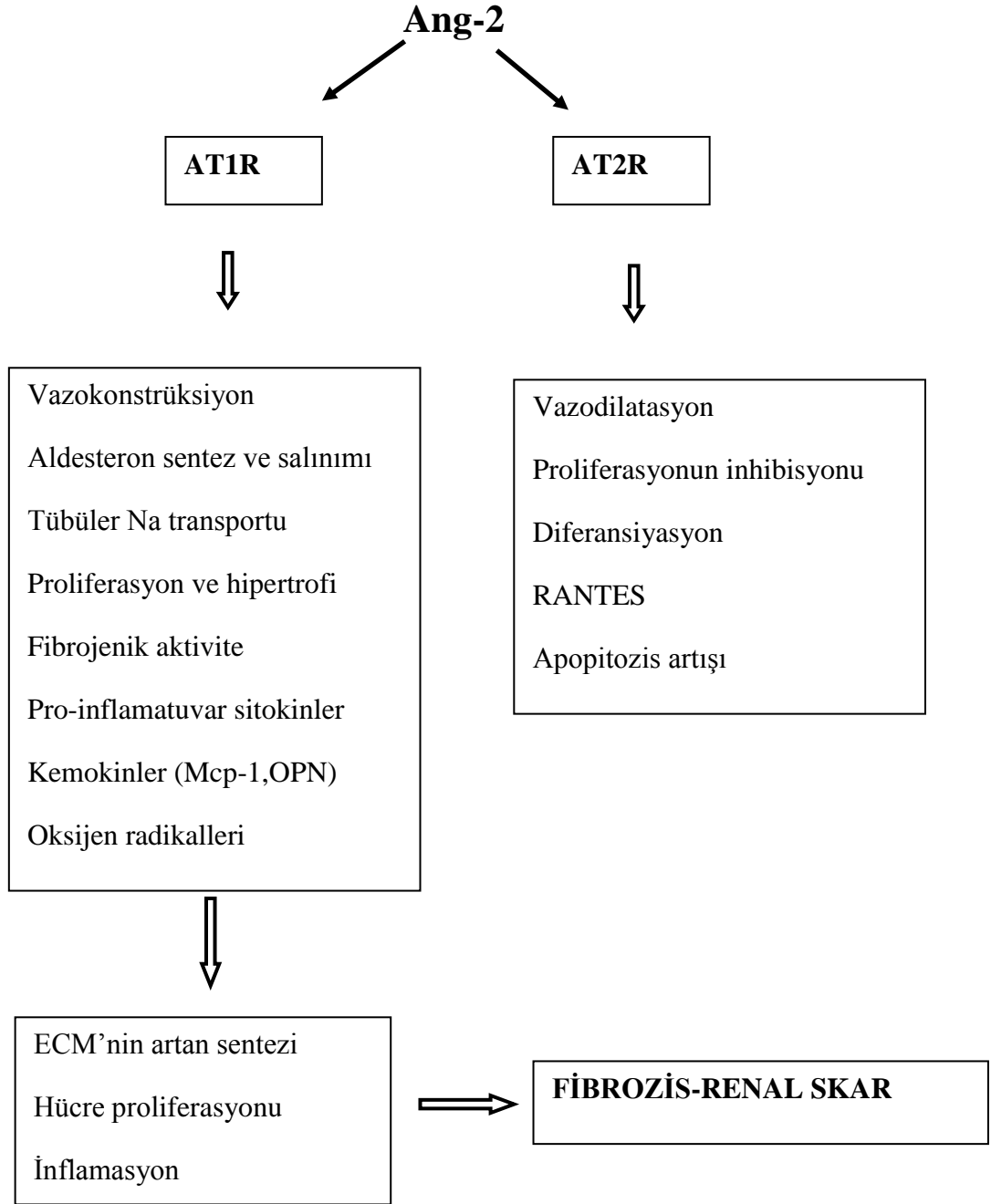
2.2.RENİN ANJİYOTENSİN SİSTEMİ

RAS, sadece kan basıncının, sıvı ve elektrolit dengesinin düzenlenmesi için gerekli bir sistem olmakla kalmaz, aynı zamanda progresif renal yetmezlik, esansiyel hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli hastalıkların patogenezinde de önemli rol oynar.RAS'ın son ürünü olan Ang-2, hem güçlü bir vazokonstriktör hem de hücre proliferasyonuna, ekstarsellüler matriks protein sentez ve birikimine aracılık eden bir maddedir. Bu etkileriyle RAS, çeşitli organ sistemlerinde progresif fibrotik hastalık süreçlerine katkıda bulunur.RAS gen sistemi, renin, anjiyotensinojen, ACE ve Ang-2 reseptörleri (Tip₁/ Tip₂) genlerini kapsamaktadır Bu nedenle RAS bileşenleri olan renin, anjiyotensinojen, ACE, Ang-2, AT1R/AT2R ile çeşitli hastalık süreçleri arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amacıyla bir çok çalışma yürütülmüştür. Aynı zamanda ACE, AT1R ve AT2R kodlayan genlerin klonlanması sonucunda çeşitli polimorfizmler saptanmıştır.

2.2.1. Ang-2, AT1R, AT2R Gen Polimorfizmleri : RAS, kardiyovasküler homeostazis, sistemik kan basıncı ve sıvı-elektrolit dengesinin düzenlenmesinde önemli bir yere sahip olmakla beraber renal ve somatik büyümede ve anjiyogeneziste

rol oynar.RAS'ın biyolojik etkilerinden sorumlu olan en önemli hormon, oldukça aktif bir oktapeptit olan Ang-2'dir. Ang-2, dolaşıma karaciğer tarafından verilen anjiyotensinojenden iki enzimatik ayrılma yolu ile ortaya çıkar. Glomerüler hipoperfüzyon sonucu, böbrekteki jukstaglomerüler apparatus tarafından üretilen renin aracılığı ile anjiyotensinojen, anjiyotensin 1'e dönüşür. Anjiyotensin 1, aktif olmayan bir dekapeptiddir. Anjiyotensin-1, ACE aracılığı ile Ang-2'ye dönüştürülür. Ang-2'nin renal organogeneziste önemli rol oynadığı bilinmektedir (83). Ang-2, etkilerini yüksek affinite gösterdiği, AT1Rve AT2R aracılığı ile göstermektedir (83)

AT1R,dokularda yoğun olarak bulunup, Ang-2'nin özellikle vazokonstriktör etkilerinden sorumludur. AT2R ise fetal dokularda bol miktarda bulunur ve doğumu takiben giderek azalır. Fetusun gelişiminde rol oynadığı düşünülmektedir. Lokal Ang-2 üretimi, miyokard infarktüsü, böbrek ve damar hasarı gibi doku onarımı ile birlikte olan belirli patolojik durumlarda olmaktadır (83). Ang-2, fibrozis için önemli bir mediyatör olan TGF-B'yı eksprese eder. Ayrıca latent olan TGF-B'yı aktif hale dönüştürür ve fibroblast kollajen sentezini stimüle eder (84,85). RAS ve TGF-B arasındaki etkileşimin böbrekteki fibrozisi açıklayabileceği öne sürülmektedir (74). Ang-2'nin fibrozisteki etkilerinden osteopontin, MCP-1, RANTES gibi kemoatraktan proteinlerin artan ekspresyonunun etkili olduğu düşünülmektedir. Bu işlevinin AT1R üzerinden yaptığı bilinmektedir. Artan AT1R aktivasyonu kollajen-1 fibronektin gibi ECM matrik komponentlerinin artışına yol açmakta ve glomerüler sklerozis gelişmesini kolaylaştırmaktadır.



Şekil 2.7. Renal Skar Gelişmesinde Ang-2, AT1R ve AT2R

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hafsa Sultan Hastanesi Pediatrik Nefroloji BD’da Etik Kurul onayı alındıktan sonra Ocak 2010-Ocak 2012 tarihleri arasında izlenen ve VUR tanısı alan 25 skar (+)/25 skar (-) toplam 50 hasta ile T.İYE tanısı ile izlenen 25 skar(+)/25 skar (-) toplam 50 hasta, kontrol grubu olarak rutin muayene amaçlı çocuk polikliniğine başvuran 50 sağlıklı çocuk çalışmaya dahil edildi.

3.1. Radyolojik Değerlendirme ve T.İYE Tanısı: VUR tanısı MSUG ile konuldu. MSUG öncesi hastalarda genel durum iyiliği, normal vücut ısısı, idrar kültürünün steril olması gibi şartlar arandı. Sterilite şartlarına uygun şekilde lokal anestetik ve antiseptik özellikli lubrikan kullanılarak uygun boyutta ‘feeding tüp’ (6-8 F) ile transüretal olarak mesane kateterizasyonu yapıldı. Kontrast madde steril şartlarda ½ oranında SF ile dilüe edilerek infüzyon sıvısı oluşturuldu. Oda ısısında yeterli sürede bekletilen infüzyon sıvısıyla, hastadan 70cm yükseğe yerleştirilen setten damla infüzyonu ile mesane dolduruldu. Mesanenin dolumu, önceden hesaplanan tahmini mesane kapasitesi dikkate alınarak ya da hastanın sözlü ifadesi veya infüzyon sıvısının akımının yavaşlayıp durması ile karar verildi.

Çoğunlukla farklı mikroorganizmalar ya da aynı mikroorganizmanın farklı suşları tarafından oluşturulan, genellikle semptomatik ancak arada asemptomatik dönemleri olan ve tekrarlayan idrar kültürlerinde anlamlı bakteriüri değerlendirilen (taze bakılan ve steril olarak torbaya alınan orta akım idrarda 10^5 CFU/ml yada kateterle alınan idrarda 10^2 - 10^3 CFU/ml) sık tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonu olan hastalar T.İYE hasta grubu olarak değerlendirildi. Hastalarda skar varlığı DMSA ile araştırıldı. Nörojenik mesane, alt üriner sistem obstrüksiyonu, çift toplayıcı sistem ve ektopik böbrek gibi sekonder reflülü hastalar ve ek üriner sistem malformasyonları olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Tüm hastaların tanıdan sonraki 4-6 ay içerisinde ^{99m}Tc -DMSA sintigrafileri çekildi. ^{99m}Tc -DMSA enjeksiyonundan 3 saat sonra posterior, anterior ve bilateral

oblik imajlar elde edilmiştir. Patolojik bulgu içeren ^{99m}Tc-DMSA sintigrafileri, 6 ay süre sonrasında ikinci kez tekrarlanmış ve önceki bulgular ile karşılaştırıldı. Renal skar ardışık iki ^{99m}Tc-DMSA incelemesinde değişmeden kalan fokal veya jeneralize up-take defekti ve/veya böbrek kontür defekti olarak tanımlanmış ve Goldraich tarafından yapılan skar derecelendirilmesine göre Tip 1-Tip 4 arasında sınıflandırıldı (86).

Çalışma öncesi AT1R/AT2R gen polimorfizmlerinin araştırılmasının nasıl yapılacağı hakkında tüm hasta gruplarının ailelerine yazılı ve sözlü bilgi verildi. Ailelerin yazılı olarak onamı alındı.

3.2. AT1R /AT2R DNA İzolasyonu ve Gen polimorfizmi Saptanması

DNA izolasyonu: Hastalardan EDTA'lı tüpe alınan 1ml periferik kandan 200µl alınarak genomik DNA elde edildi. Bu yöntem için *Invitrogen Purelink Genomic Blood DNA Purification* DNA izolasyon mini kiti kullanıldı. DNA eldesi işlemleri kit prospektüsüne göre yapıldı. Genomik DNA eldesinin aşamalarında kullanılan solüsyonların amaçları, hücre lizis solüsyonu ile hücre zarının uzaklaştırılıp hücre içeriklerinin açığa çıkmasını, proteinaz K ile tüm hücrel ve nükleer histon proteinlerin ve RNA'nın uzaklaştırılmasını sağlar. Alkolle DNA'nın membranda presipitasyon basamağı ile yıkaması gerçekleştirildi. Membrana bağlama basamakları sonucunda alkol, protein ve membran lipid kontaminasyonlarından uzaklaştırılmış halde en son uygulanan elüsyon basamağında DNA'nın saf olarak eldesi sağlandı. Elüsyon tampon çözeltisi ile membrana bağlı kalan nükleik asidin %85-100'ü elde edildi.

Invitrogen Purelink Genomic Blood DNA Purification (K1820-01) DNA izolasyon mini Kit prosedürü:

Hazırlama;

- Su banyosu 55⁰C'ye ayarlanır.
- Her hasta için 1,5 ml'lik ependorf, spin ve kolon tüpler hazırlanır.
- Etil alkol saf olması için yeni olarak hazırlanır. (%95>)

Prosedür;

- Steril bir ependorf tüpüne 200µl donmuş ya da taze kan örneği konur.
- Üzerine 20 µl Proteinaz-K eklenir.
- 20 µl Rnase A ekleyin ve vortekslenir, oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edilir.
- 200 µl Genomik/Lysis tamponundan eklenir ve homojen olana kadar vortekslenir.
- Protein sindirimini hızlandırmak için 55⁰C'de 10 dk. su banyosunda inkübe edilir.
- 200 µl %96-100'lük etil alkol eklenir, 5 saniye kadar vortekslenir.
- Ependorftaki lizattan toplama tüplerine ~640 µl eklenir.
- 8.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edin. Kolonları atılır ve temiz tüpe yerleştirilir.
- 500 µl Wash Buffer 1 ilave edilir.
- 8.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edin. Kolonları atılır ve temiz tüpe yerleştirilir.
- 500 µl Wash Buffer 2 ilave edilir.
- 3 dakika maksimum hızda santrifüj edilir. Kolonları atın ve temiz tüpe yerleştirilir.
- 25-200 µl (ort. 100 µl) Elution Buffer eklenir, 1-2 dakika oda ısısında bekletilir.
- Maksimum hızda 1 dakika santrifüj edilir.
- Elde edilen DNA toplama tüpünde birikmiştir, burdan mikropipetle ependorfa aktarılarak +4C⁰'de ya da -20⁰C'de saklanılarak, gerekirse dilüe edilerek kullanılır.

DNA'nın kontrolü

2 µl (100 ng) DNA çözeltisi %1'lik agaroz jelde elektroforez işlemine tabi tutuldu. DNA saflığının ölçülmesi için, NanoDrop Spektrofotometre cihazında 260/280 nm

dalga boyunda ölçüm yapıldı. Kontrolü tamamlanan DNA molekülleri, DNA sekans analizine başlamak üzere +4⁰C’de saklandı.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu – PCR.

Anjiotenzin 2 reseptör Tip₁ proteinini kodlayan AT1R geninde bulunan A1166C polimorfizmi ve reseptör proteinini kodlayan AT2R geninde bulunan A1332G polimorfizmi genotip dağılımı Polimeraz Zincir Reaksiyonu(PCR) sonrası enzim kesim yöntemiyle yapılmıştır.

AT1R geni A1166C Polimorfizmi İçin Polimeraz Zincir Reaksiyon

Genotipleme çalışması Bonnardeaux A’ya göre PCR –RFLP yöntemi ile yapılmıştır (113). AT1R geni için oligonukleotit primerleri Invitrogen (Invitrogen Carlsbad, USA) tarafından sentezlenmiştir.

Forward - 5’F-GAAGCCTGCACCATGTTTTG-3’

Reverse -5’R-GATCTGCAACTTGACGACTA-3’

Bu primerlerle yapılan PCR amplifikasyonu sonrası elde edilen PCR ürün uzunluğu 410 baz çiftir.

Her bir birey için genotip tayin etmede standart PCR reaksiyonu kullanıldı. 25mkl PCR reaksiyon karışımı; 100ng genomik DNA, 2.5mkl 10[×]PCR tampon solüsyonu(Invitrogen Enhancer Buffer) 2.5 Mm MgCl₂, her biri 200mkM dört dNTP (Promega, Madison.US), her biri 5 pmol forward ve reverse primerleri ve 1.0 U Platinyum TaqPolimerazı içermektedir.PCR amplifikasyonu Veriti PCR makinesinde(Applied Biosystems) aşağıdaki gradiyent temalcycler programı uygulanarak yapılmıştır.

95⁰C ‘de- 10 dakika denatürasyon -1 döngü

95⁰C ‘ - 45 saniye- 35 döngü,

53 °C- 58° C- 60 saniye-35 döngü

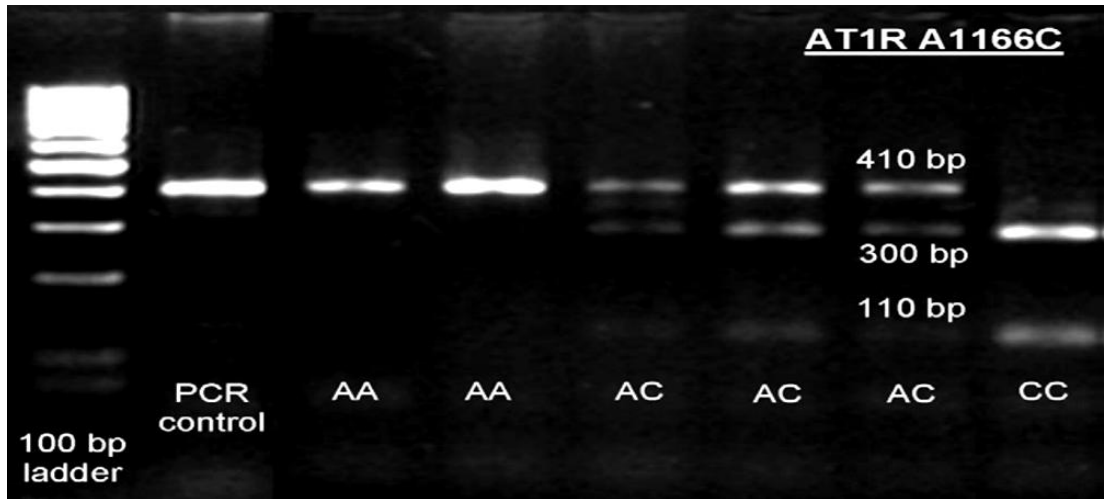
72° C - 1.5 dakika -35 döngü

72° C - 10 dakika - 1döngü

PCR Amplifikasyon ürünü Etidyum Bromürlü %2'lik Agaroz Jel elektroforezine tabii tutulur. Elektroforez sonrası görüntüleme Digital Jel Görüntüleme sistemide kayıt edilir. Her bir PCR amplifikasyon ürünü baz çift sayısına göre kayıt edilir. Genotipleme için pozitif PCR ürünlerine enzim kesim işlemi(RFLP) uygulanır.

DdeI enzim ile RFLP işlemleri:

AT1R geni A1166C polimorfizmi için DdeI enzimi(New England Biolabs, Beverly, MA), enzimi kullanılmıştır. PCR ürününden 7 mkl , uygun tampondan 1.5 mkl ve 5U enzim olmakla toplam 15 mkl volümde 2 saatlik 37°C inkübasyon yapılmıştır. Kesim ürünleri genotipleme yapılmak için %3'lük NuSieve agaroz jel elektroforezi yapıldıktan sonra kesim ürünlerinin Jel Görüntüleme sisteminde UV ışınlamada yapılır. C alleli taşıyanlarda enzim kesimi olur ve 2 adet 300 ve 110 baz çift iki bant olarak görüntülenir. A alleli homozigotlarda tek bant – 410 baz çift bant, CC homozigotlarda ise 300 baz çift bant görüntülenmektedir (şekil 3.1).



Şekil 3.1. AT1R Polimorfizminin Jel Elektroforez ile Görüntülenmesi

AT2R geni A1332G Polimorfizmi Moleküler Analizi

AT2R geni için oligonukleotit primerleri Invitrogen (Invitrogen Carlsbad, USA) tarafından sentezlenmiştir.

Forward-5'AGA GAT CTG GTG CTATTA CG- 3'

Reverse 5'-CACTTGAAGACTTACTGGTTG-3'

Bu primerlerle yapılan PCR amplifikasyonu sonrası elde edilen PCR ürün uzunluğu 310 baz çifttir.

PCR işlemleri:25mkl PCR reaksiyon karışımı; 100ng genomik DNA, 2.5mkl 10mkl PCR tampon solüsyonu (Invitrogen Enhancer Buffer) 2.0 Mm MgCl₂, her biri 200mkM dört dNTP (Promega, Madison.US), her biri 20 pmol forward ve reverse primerleri ve 1.0 U Platinyum TaqPolimerazı içermektedir.

PCR amplifikasyonu Veriti PCR makinesinde(Applied Biosystems) aşağıdaki gradiyent temalcycler programı uygulanarak yapılmıştır.

95⁰C 'de- 10 dakika denatürasyon -1 döngü

95⁰C ' - 60 saniye- 35 döngü,

56⁰C- 62⁰C- 60 saniye-35 döngü

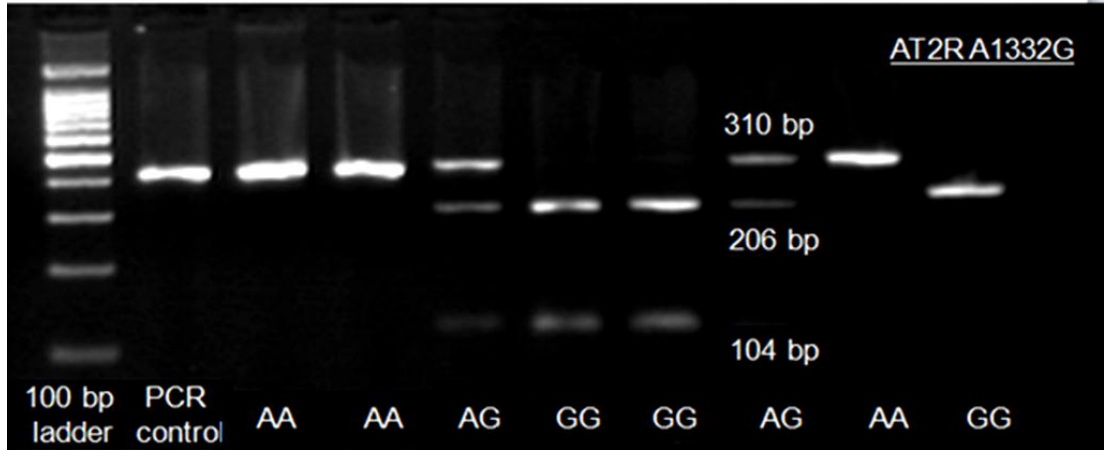
72⁰C ' - 1.5 dakika -35 döngü

72⁰ C - 10 dakika - 1 döngü

PCR Amplifikasyon ürünü Etidyum Bromürlü %2'lik agaroz Jel elektroforezine tabii tutulur.Elektroforez sonrası görüntüleme digital Jel görüntüleme sitemide kayıt edilir. Her bir PCR amplifikasyon ürünü baz çift sayısına göre kayıt edilir.Genotipleme için pozitif PCR ürünlerine enzim kesim işlemi(RFLP) uygulanır.

DdeI enzim ile RFLP işlemleri:

AT2R geni A1332G polimorfizmi için HYP188III enzimi (New England Biolabs, Beverly, MA), enzimi kullanılmıştır. PCR ürününden 7 mkl , uygun tampondan 1.5 mkl ve 5U enzim olmakla toplam 15 mkl volümde 24 saatlik 37⁰C inkübasyon yapılmıştır. Kesim ürünleri genotipleme yapılmak için %3'lük NuSieve agaroz jel elektroforezi yapıldıktan sonra kesim ürünlerinin Jel Görüntüleme sisteminde UV ışınlamada yapılır. G heterozigot alleli taşıyanlarda enzim kesimi olur ve 3 adet 310; 206 ve 104 baz çift üç bant olarak görüntülenir. A alleli homozigotlarda tek bant – 310 baz çift bant, GG homozigotlarda ise 206 baz çift bant görüntülenmektedir (şekil 3.2).



Şekil 3.2. AT2R Polimorfizminin Jel Elektroforez ile Görüntülenmesi

Periferik Kandan RNA Ekstraksiyonu: Periferal kan lökositlerinden (PBLs) total RNA ekstraksiyonu için Qiagen RNA Blood Mini Isolation Kit kullanılarak mRNA elde edilmiştir.

RNA Miktarının Ölçülmesi: İzole edilen RNA molekülünün konsantrasyonu NanoDrop Spektrofotometre cihazı ile 280 nm dalga boyunda (saflaştırılmış RNA'nın oranı) ölçülmüştür. İzolasyon ve kantite edilen RNA'dan hemen cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Uzun dönemli saklama -80 ve daha kısa dönem saklama -20 C'de gerçekleştirilmiştir.

Revers Transkripsiyon PCR İle RNA'dan cDNA Sentezi

cDNA Sentezi: Quantitect Reverse Transcription Kit, izole edilen RNA'dan cDNA sentezinde kullanılmıştır. İki basamaklı cDNA sentezinin ilk basamağını 14 uL total volümde gDNA wipeout buffer 7x, kalıp RNA, RNAaz içermeyen su karışımı ile ikinci basamağını 20 uL total volümde reverse transcription master mix ve ilk cDNA reaksiyon karışımı oluşturmaktadır. Thermal Cycler 42 C 30 dk ve 95 C 3 dk, 1 siklus cDNA reaksiyonunun sıcaklık döngüsü programını oluşturmuştur.

cDNA Kalitasyonu: PCR ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforezine tabi tutulmuştur. Elektroforez işlemi yukarıda anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir.

AT2R Geni mRNA Ekspresyonu Ve Kantitasyonu; Real-Time PCR

Metodu: Real-Time PCR reaksiyonu için Qiagen firmasından temin edilen Quantitect Prob RT-PCR kiti kullanılmış ve reaksiyonlar ABI PRISM 7700 cihazında gerçekleştirilmiştir. Kontrol gen olarak RNaseP kullanılmıştır. Karışım; 25 uL 2xQuantitect Probe RT-PCR Master Mix, iki ayrı gene spesifik 10 uM konsantrasyonda forward, revers primerler ve prob setleri, 12 uL RNAaz-DNAaz free su ve 10 ng cDNA olmak üzere total volüm 50 uL'ye tamamlanmıştır. Standart real time PCR programı uygulanmıştır.

Değerlendirme: Sonuçlar Comparative Ct yöntemi ile hesaplanmıştır

3.3. Ang-2 mRNA Değerinin Belirlenmesi: Ang-2 proteini mRNA kantitasyonu için, çalışmaya katılacak çocuklardan rutin tahlilleri sırasında alınan kan eşit oranda RNA koruyucu sıvı (RNALater, Ambion Co.) ile karıştırıldı. Bu karışımdan RNA özel RNA izolasyon kiti ile ayrıştırıldı. Kantitasyonu spektrofotometrede yapıldı. RNA'dan cDNA eldesi RT-PCR yöntemiyle Invitrogen cDNA kiti ile yapıldı. cDNA'dan mRNA kantitasyonu özel sipariş edilecek primer ve prob ile TaqMAN real time pcr kiti kullanılarak ABI7000 Realtime PCR makinesinde yapıldı. House keeping gene olarak alfa- actinin kullanıldı. Elde edilen Ct ve delta Ct değerleri kullanılarak mRNA verileri alındı.

3.4. İstatistiksel Analiz: Veriler SPSS 11.5 Windows istatistik paket programında değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler kategorik değişkenler için yüzde dağılımı,

sayısal değişkenler için ortalama \pm standart sapma ile sunuldu. Tanımlayıcı veriler ve allel dağılımı ile ilgili verilerin analizinde, ki kare testi kullanıldı. T.İYE olgularında (tüm T. İYE olguları, Skar +/- ayrı ayrı olmak üzere) ve VUR olgularında (tüm VUR'lu olgular, Skar +/- ayrı ayrı olmak üzere) kontrol grubuna göre AT1R/AT2R gen polimorfizmi lojistik regresyon analizi ile değerlendirilip, farklı genetik poliformizler için OR (%95 GA) hesaplandı.

4.BULGULAR

Çalışmamızda, VUR'lu hasta grubumuzun 22'si erkek 28'i kız hasta olup yaş ortalaması $\pm 7,3$, T. İYE hasta grubumuzun 23 'ü erkek, 27'si kız hasta olup yaş ortalaması $\pm 6,9$ olarak değerlendirildi. VUR'lu hastalardan 26'sının (%52) ilk başvuruları asemptomatikti. 15 hasta (% 30) evre I, 18 hasta (%36) evre II, 8 hasta (%16) evre III ve 9 (%18) hasta evre IV reflü olarak değerlendirilirken evre V reflülü hasta değerlendirilmedi. VUR'lu hastaların 37 'si (%74) düşük evre VUR (evre I-III), 13 'ü (%26) ileri evre VUR (evre IV) olarak değerlendirildi.

Hastaların 19'unda (%38) bilateral VUR mevcut olup, 32'sinde (%64) aile öyküsü mevcut değildi .48 VUR'lu hastanın (%92)takibinde komplikasyon gelişmemiş olup sadece 2 hasta'da (%4) VUR'a sekonder hipertansiyon mevcuttu. Hastaların VUR tanı alma yaşı $4,2\pm 2,4$ olarak değerlendirildi. Tablo 4.1'de VUR'lu hastaların özellikleri belirtilmiştir.

Tablo 4.1: VUR'lu Hasta Grubunun Özellikleri

Özellik		Sayı (n:50)	Yüzde (%)
Başvuru şikayeti	Semptom Yok	26	52,0
	Karın ağrısı	15	30,0
	Ateş Yüksekliği	8	16,0
	Diğer	1	2,0
Reflü Derecesi	Derece I	15	30,0
	Derece II	18	36,0
	Derece III	8	16,0
	Derece IV	9	18,0
	Derece V	0	0
Reflü lokalizasyonu	unilateral sol	18	36,0
	unilateral sağ	13	26,0
	bilateral	19	38,0
VUR evresi	Düşük Evre (evre 1-3)	37	74,0
	Yüksek Evre (evre 4-5)	13	26,0
VUR aile öyküsü	Yok	32	64,0
	Var	18	36,0
VUR sonrası komplikasyon	Yok	48	96,0
	Var	2	4,0

33 febril İYE öyküsü olan hastalarının 22'sinde (%66,7) 3'den daha fazla febril İYE geçirme öyküsü mevcuttu. Hastaların 42'si (%84) antibiyotik profilaksisi almaktaydı. T.İYE hastaların özellikleri tablo 4.2'de belirtilmiştir

Tablo 4.2 .T.İYE Hasta Grubunun Özellikleri

Özellik		Sayı (n=50)	Yüzde (%)
Profilaktik antibiyotik kullanımı	Var	42	84,0
	Yok	8	16,0
Febril İYE N:33	İYE Sayı < 2	11	33,3
	İYE sayı > 3	22	66,7
Afebril İYE sayı N:17	İYE Sayı < 2 den az	15	83,3
	İYE sayı >2	2	16,7

T. İYE, VUR ve kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. T.İYE, VUR ve Kontrol Grubu Arasında Yaş, Cinsiyet Karşılaştırılması

	İYE Total (n=50)	İYE Skar (+) (n=25)	İYE Skar (-) (n=25)	VUR Total (n=50)	VUR Skar (+) (n=25)	VUR Skar (-) (n=25)	KONTROL (n=100)
Yaş (mean±sd)	6.9±3.0	7,6±3,6	6,2±2,1	7,3±2,9	7,5±3,2	7,2±2,6	6,3±2,7
Erkek (%)	46,0	48,0	44,0	44,0	36,0	52,0	48,0
Kadın (%)	54,0	52,,0	56,0	56,0	64,0	48,0	52,0

VUR skar(-) grupta AC genotipi kontrol grubuna göre 3 kat (%95 GA 1,1-8,5) yüksek olup istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Total VUR /kontrol grubu ve VUR skar (+)/ skar(-) kontrol grubu karşılaştırıldığında AT1R/AT2R gen polimorfizm dağılımında istatistiksel olarak anlamlı fark değerlendirilmedi ($p>0,05$). Tablo 4.4’de Total VUR, VUR Skar(+), VUR Skar(-) ve Kontrol Grubunda AT1R/AT2R Gen Polimorfizm İlişkisi belirtilmiştir.

Tablo 4.4: Total VUR, VUR Skar(+), VUR Skar(-) ve Kontrol Grubunda AT1R/AT2R Gen Polimorfizm İlişkisi

Ang-2 Gen Polimorfizmi	VUR skar (+) (n=25) %*	OR (%95- GA)	VUR Skar (-) (n=25) %*	OR (%95 – GA)	VUR total (n=50) %*	OR (%95- GA)	Kontrol (n=50) %*
AT1R							
AA	64,0	1(ref)	40,0	1(ref)	52,0	1(ref)	66,0
AC	36,0	1,2 (0,4-3,4)	56,0	3,1 (1,1-18,5)**	46,0	1,1 (0,8-4,5)	30,0
CC	0,0	0,0	4,0	1,7 (0,1-20,2)	2,0	0,6 (0,05-7,4)	4,0
AT2R							
AA	28,0	1(ref)	52,0	1(ref)	40,0	1(ref)	44,0
AG	52,0	1,9 (0,6-5,5)	28,0	0,5 (0,1-1,6)	40,0	1,0 (0,4-2,4)	44,0
GG	20,0	2,6 (0,6-11,3)	20,0	1,4 (0,4-5,6)	20,0	1,8 (0,56-5,9)	12,0

*Sütun yüzdesi **P<0,05

AT1R gen polimorfizm değerlerine bakıldığında, total T.İYE olguları ve kontrol grubu karşılaştırıldığında, T.İYE olgularında AC genotipi kontrol grubuna göre 2,7 (%95 GA 1,2-6,5) kat yüksek ve CC genotipi kontrol grubuna göre 6 (%95 GA 1,2-32,3) yüksek değerlendirilmiş olup istatistiksel olarak anlamlı bulundu. ($p<0,05$). İYE skar (-) hasta grubunda, AC genotipi kontrol grubuna göre 3,6 (%95 GA 1,3-10,6) kat yüksek ve İYE skar (+) grubunda CC genotipi kontrol grubuna göre 9,9 (%95 GA 1,7-56,9) kat yüksek olup istatistiksel olarak anlamlı değerlendirilmiştir ($p<0,05$).

AT2R gen polimorfizmi değerlerine bakıldığında, total T.İYE grubunda GG genotipi ,kontrol grubuna göre 3,2 (%95 GA 1,07-10) kat yüksek olup istatistiksel olarak anlamlı değerlendirilmiştir ($p<0,05$). Tablo 4.5'te Total T. İYE, T.İYE skar (+), T.İYE skar (-) ve kontrol grubunda AT1R/AT2R gen polimorfizm ilişkisi belirtilmiştir.

Tablo4.5. Total T. İYE, T.İYE Skar (+), T. İYE Skar (-) ve Kontrol Grubunda AT1R/AT2R Gen Polimorfizm İlişkisi

Ang-2 Gen Polimorfizmi	İYE Skar (+) (n=25) %*	OR (%95-GA)	İYE Skar (-) (n=25) %*	OR (%95-GA)	İYE Total (n=50) %*	OR (%95 -GA)	Kontrol (n=50) %*
AT1R							
AA	40.0	1(ref)	36.0	1(ref)	38.0	1(ref)	66.0
AC	36.0	2 (0,6-5,9)	60.0	3,6 (1,3-10,6)**	48.0	2,7 (1,2-6,5) **	30.0
CC	24.0	9,9 (1,7-56,9) **	4.0	1,8 (0,14-22,5)	14.0	6,1 (1,2-32,3)**	4.0
AT2R							
AA	44.0	1(ref)	32.0	1(ref)	38.0	1(ref)	44.0
AG	20.0	0,5 (0,1-1,5)	36.0	1,1 (0,4-3,5)	28.0	0,7 (0,3-1,8)	44.0
GG	36.0	3.0 (0,8-10,6)	32.0	3,6 (0,9-13,9)	34.0	3,2 (1.07-10.)**	12.0

* sütun yüzdesi **p <0,05

T.İYE Grubunda C Allel sıklığı (%38,0) kontrol grubuna göre (%19,0) daha fazladır (p<0,05). A ve C allel sıklığı açısından, VUR ve kontrol grubunda farklılık saptanmamıştır (p>0,05).

T.İYE grubunda G allel sıklığı (%48,0) kontrol grubuna göre (%34,0) daha fazladır (p<0,05). A ve G allel sıklığı açısından, VUR ve kontrol grubunda farklılık saptanmamıştır (p>0,05). Tablo 4.6 ve tablo 4.7’de VUR, T.İYE ve kontrol grubu arasında A, C ve G allel sıklığı karşılaştırılmıştır.

Tablo 4.6: VUR, T.İYE ve Kontrol Grubunda A/C Allel Sıklığının Karşılaştırılması

	A allel		C allel		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
İYE	62	62,0	38	38,0	100	100,0
VUR	75	75,0	25	25,0	100	100,0
Kontrol	81	81,0	19	19,0	100	100,0

P=0,0014 ki kare (T.İYE-Kontrol) P=0,15 (VUR-Kontrol)

Tablo 4.7: VUR, T.İYE ve Kontrol Grubunda A/G Allel Sıklığının Karşılaştırılması

	A allel		G allel		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
İYE	52	52,0	48	48,0	100	100,0
VUR	60	60,0	40	40,0	100	100,0
Kontrol	66	66,0	34	34,0	100	100,0

P=0,022 ki kare (T.İYE-Kontrol) P=0,18 (VUR-Kontrol)

VUR'lu hastalarda Ang-2 mRNA değerleri 1,5 kat olmasa da 1,5 kata yakın düzeyde artmış olup, upregülasyon gözlemlendiği söylenebilir. T.İYE'de Ang-2 mRNA değerleri ekspresyonunda artma ya da azalma gözlenmemiştir.

TARTIŞMA

VUR, çocuklarda en sık rastlanan ürolojik problemlerden biridir (87). VUR, T.İYE ve renal parankimal hasar arasındaki ilişki, uzun yıllardan beri bilinmektedir. Geçirilen pyelonefrit atakları T.İYE'li ve VUR'lu hastalarda öncelikle böbrekte skar gelişmesine sonrasında ise ağır HT ve KBH ile sonuçlanan RN'ye yol açmaktadır(7). Gelişmiş ülkelerde VUR'un ileri tetkiklerinin yaygınlaşması ve VUR hastalarının yakın takibi ile RN morbiditesinde azalma sağlanmıştır. Yine gelişmiş ülkelerde KBH etyolojisinde RN oranı, %5-12 olup , gelişmekte olan ülkelerde bu oran daha yüksektir Bu durum VUR'un önemini daha da artırmakta, erken tanı ve tedavisi ile yenilikler gündeme gelmekte, özellikle skar gelişimi açısından risk faktörleri üzerinde durulmaktadır.

VUR nedeni ile takipte olan hastalarda tanı anında %30-60 oranında RN tesbit edilmiştir (88). Goldraich, VUR tanısı koyduğu 314 böbrekten, 137'sinde (%44) tanı konulduğunda RN gelişmiş olduğunu bildirmektedir(89). İşlek ve ark.yaptığı bir çalışmada, 137 KBH'lı hastanın 24'ünde (%17,5), etyolojinin RN olduğu bildirilmiştir (107). Şirin ve ark. 459 KBH'lı çocuk hastanın 149'unda (%32) RN'ye sekonder KBH saptamışlardır(7). Bizim hastalarımızda KBH'ğı rastlanmamış sadece 2 hastamızda (%4) VUR'a sekonder HT gelişmiştir. Bunun nedeni hasta takip süremizin kısa olması ve takiplerimizin devam etmesidir.

VUR; multifaktöriyel bir hastalıktır ancak VUR'un genetik komponentinin de olduğu bilinmektedir. VUR'lu hastaların semptomatik ya da asemptomatik olduğuna bakılmaksızın, kardeşlerinde VUR insidansı %8-32 civarındadır (42). Puri ve ark. semptomatik kardeşlerde genelde yüksek derecede VUR olduğunu ve çoğunlukla RN'nin eşlik ettiğini saptamışlardır (25). Bizim VUR'lu hastalarımızın 32'sinde (%64) aile öyküsü yokken, 18'inde (%32) aile öyküsü mevcuttu ve hepsi birinci derece akrabası idi. Ancak tarafımızca takipli olmadıkları için reflü derecesi, skar varlığı, komplikasyon öyküsü hakkında bilgi edinilemedi . Hastalarımızın hiç birinde

kardeş VUR öyküsü mevcut değildi. Hastalarımızın bazılarının kardeşlerinde İYE öyküsü olup ebeveynlerine, kardeşlerde de VUR olabileceğini ve tarama yapılması gerektiğini söylememize rağmen aile duyarsızlığı, kültürel ve sosyoekonomik nedenlerle süreç sağlıklı işlememiştir.

RAS, embriyolojik gelişimin yanı sıra glomerüler hemodinamik ve sklerotik prosesin düzenlenmesinde de yer alır. Yapılan çalışmalarda RAS gen mutasyonları, VUR'da renal bozukluğun varlığı ve ilerlemesi için bir risk faktörü olarak ortaya konulmuştur. VUR malformasyon patogeneğinde, ACE, anjiyotensinojen, Ang-2 başta olmak üzere AT1R/AT2R gen polimorfizmleri üzerinde çeşitli çalışmalar yapılmıştır.

RN'de primer lezyon tübulointertisyeldir ve VUR'un düzelmesine rağmen renal hasarın ilerleyebileceği bilinmektedir (90). Marcussen, kronik renal hastalık progresyonunda progresif glomerulosklerozisten ve tübulointertisyel alanı içeren intertisyel fibrozisten bahsetmiştir. Çalışmasında, RN'nin kesin etyolojisi hala tam açık olmasa da intrarenal ve glomerüler hemodinamik değişikliklerin RAS yoluyla oluşabileceğine inanılmıştır (91).

Çeşitli çalışmalarda altta yatan renal hastalıktan bağımsız olarak renal fonksiyon bozukluğu ve KBH gelişimi RAS polimorfizmleri ile ilişkili bulunmuştur (92,93,94). Kromozom 16'daki ACE geninin insersiyon/delesyon polimorfizmi DD, DI, II olarak bilinen 3 genotipinden DD homozigositesi plazmadaki yüksek ACE seviyesi dokudaki ACE aktivitesi ile ilişkili bulunmuş. Bu durumun renal skar oluşumuna yol açan ECM formasyonu glomerüler sklerozisi ve intertisyel fibrozisi kolaylaştırdığı düşünülmüştür (95).

RAS genlerindeki bozuklukların hayvanlarda belirgin renal gelişimsel defektlere yol açtığı gösterilmiş. Anjiyotensinojen defisiti olan mutant farelerde, atrofik renal papilla ve pelviksiyel genişleme gecikmiş glomerüler matürasyon, üre/konsantrasyon defektleri, kronik perivasküler inflamasyon ve intertisyel fibrozis olduğu gösterilmiştir (98). ACE ve AT1R gen defisiti olan mutantlarda da benzer fenotipik özellikler gözlenmiştir. AT2R defisiti olan mutant farelerde ise özellikle

ürolojik bozukluklar (hidronefrozis gibi) gözlenmiş olup, sonuçta, ACE, AT1 ve anjiyotensinojen reseptörlerinin olmayışı renal parankimal yapıda bozukluğa yol açarken, AT2R yokluğunun üriner trakt malformasyonlarına yol açtığı düşünülmüştür (96,97,98).

AT1R'nin glomerüldeki upregülasyonu renal damarlarda vazokonstriksiyona sebep olarak azalmış kan akımı ve sonuçta GFR'de düşüş ile sonuçlanır. Ang-2'nin AT1R aktivasyonu ile kollajen-1, fibronektin gibi ECM matrik komponentlerinin artışı olmakta ve glomerüler sklerozis gelişmektedir (99). Proksimal tübülde Ang-2 , Na ve sıvı reabsorbsiyonunu AT1R aracılığı ile düzenlemektedir. Bu reseptörlerin aşırı ekspresyonu glomerüler-tübüler dengenin bozulması ve artmış sıvı ve Na reabsorbsiyonunun yanı sıra TGF-Beta gibi proinflamatuvar sitokinlerin tübulointertisyel alana akışına da yol açmaktadır. Bu prosesler tübüler atrofiye, dilatasyona ve sonuçta intertisyel fibrozise varan hipertrofik değişikliklere neden olabilir. Bu bilgilerin dikkate alınarak , 6ay- 14 yaş arasında VUR'a sekonder ciddi RN'li 8 hastadan ve 3 sağlıklı hastadan (farklı bir olaya bağlı parsiyel nefrektomiye giren) alınan böbrek doku örneklemelerinden yapılan bir çalışmada; kontrol grubunda proksimalde AT1R immünoreaktivitesi zayıf, distal tübüllerde AT2R immünoreaktivitesi zayıf olarak bulunmuş. Hasta grubunda AT1R immünoreaktivitesi, proksimal tübülde ve glomerüllerde güçlü, distal tübülde zayıf ve orta derecede artmış olarak gözlenmiş. AT2R immünoreaktivitesi ise distal tübülde güçlü, proksimal tübül ve glomerüllerde zayıf olarak gözlenmiş. PCR çalışmasında reflülü böbreklerde AT1R ve AT2R ekspresyonunun kontrol grubuna göre daha yüksek seviyelerde olduğu belirlenmiştir. Artmış AT1R'nin ekspresyonun, ciddi renal skar ile ilişkili olduğu değerlendirilmiş ve erken dönemde Ang-2 reseptörlerinin farmakolojik blokajının RN ile ilişkili renal fibrozisin önlenmesinde yararlı olabileceği düşünülmüştür (100) . AT2R fetal böbrekte AT1R ile birlikte dir. AT2R'nin ekspresyonu gebelik ilerledikçe AT1R ekspresyonuna zıt olarak azalır. Bu çalışmada AT2R'nin RN'li hastalarda aşırı arttığı değerlendirilmiş ve AT2R aktivasyonunun proinflamatuvar sitokinlerin yol açtığı hücre büyümesini ihibe edebileceği ve intertisyel fibrozisi azaltan NO sitümlasyonun artırabileceği

düşünülmüştür. Ancak bu zıt etkilerin anlaşılabilmesi için ileri çalışmalar gerektiği kanısına varılmıştır (101). Bizim çalışmamızda etkilerini AT1R ve AT2R üzerinden gösteren Ang-2 mRNA ekspresyon düzeyinde VUR ve sağlıklı hasta grubu arasında farklılık değerlendirilmedi.

Daha önce yapılan çalışmalarda ACE gen polimorfizmlerinin çeşitli kardiyovasküler ve renal hastalıklarda etkili olduğu değerlendirildiğinden dolayı (102,103,104), VUR'lu çocuklarda renal skar gelişiminden AT1R, AT2R ve AGT gen polimorfizmlerinin de etkili olabileceği düşünülerek, 69 VUR'lu, 110 RN'li, 27 RN'ye sekonder KBY'li ve 40 sağlıklı kontrol grubunun dahil edildiği, 246 hastada yapılan bir çalışmada ACE I/D, AT1R (A1166C), AT2R (A3123C), anjiyotensinojen (M235T) polimorfizmleri değerlendirilmiştir. Çalışmada, AT1R, AT2R, AGT genotip frekansları, hasta grupları arasında farklı değerlendirilmemiştir (105,106). Bu sonuçlar, VUR'lu hastalardaki skar formasyonunun bu genetik varyasyonlara bağlı olmadığını düşündürmüştür. VUR'da hastalık seyrini çeşitli kompleks faktörler belirlemektedir. RAS polimorfizmlerinin bu çalışma grubunda renal skar oluşumunda bağımsız bir risk faktörü olmadığı görülmüş ancak ileri çalışmalar önerilmiştir (102). Bizim çalışmamızda da sonuçlar benzer olup, 50 VUR'lu (25 skar+/25 skar-) hasta ile 50 sağlıklı çocuk arasında, AT1R A1166C ve AT2R A1332G gen polimorfizmleri çalışıldı. VUR skar+/- grup ayrı ayrı değerlendirmeye alındığında skar (-) hasta grubunda heterozigot AC genotipi kontrol grubuna göre 3,1 kat yüksekti ancak homozigot CC genotipinde belirgin bir fark yoktu. VUR Skar(+) grup ile kontrol grubu arasında AT1R ve AT2R gen polimorfizm değerleri benzerdi. Ayrıca VUR'lu hastalarla sağlıklı kontrol grubu arasında C ve G allel sıklığı açısından da farklılık yoktu. Bu durum, bu çalışma ile bizim çalışmamızın sonuçlarının benzer olduğunu ve VUR'da renal skar gelişiminde AT1R/AT2R gen polimorfizmlerinin bağımsız bir risk faktörü olmadığını göstermektedir. VUR skar(-) hasta grubunda AC genotipinin kontrol grubuna göre bir miktar yüksek olması VUR gelişiminde AT1R A1166C gen polimorfizminin etkili olabileceğini düşündürülebilir ancak daha fazla VUR'lu hasta ile yapılacak olan

çalışmalarla bu sonuç desteklenmelidir. Sonuçta Total VUR'lu hastalarda AC veya CC genotipi, sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek değerlendirilmemiştir.

Yapılan araştırmalarda AT1R, fare ve insanların erken embriyolojik gelişim döneminde santral primitif glomerül yapısı gibi mezenşimal dokularda bulunduğu gösterilmiştir (108). Gelişimin daha ileri evrelerinde AT1R , mezenşial doku , JGA ve proksimal tübül hücrelerinde de görülmeye başlanır (109). Zıt olarak AT2R, embriyolojik gelişimde ilk olarak üreterik ağaçtaki undiferansiye mezenşimal dokuda görülür. Gelişimin sonraki evrelerinde reseptör üreterik dallanmaları çevreleyen mezenşimal hücrelerde ve renal parankimal intertisyel hücrelerde sınırlı kalır (110). Bu reseptörlerin dağılım paterni, AT1R abnormalitesinin nefron yapısında gelişim bozukluklarına yol açarken, AT2R abnormalitesinin üreteri içeren malformasyonlara neden olmaktadır. Örneğin bir çalışmada AT1R A1166C transizyonunun, primer vasküler bozukluklarla ilgiliyken AT2R A1332G transizyonunun obstrüktif megaüreter ve PUV obstrüksiyonu ile ilgili olduğu değerlendirilmiştir (111,112).

Bizim çalışmamızın amacı, konjenital malformasyonların eşlik etmediği primer VUR'lu hastalarda bu gen polimorfizmlerini değerlendirmek olması nedeniyle VUR hasta grubumuza PUV gibi sekonder reflülü hastalar dahil edilmedi. VUR'lu hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu arasında AT1R/AT2R gen polimorfizmi arasında anlamlı fark değerlendirilmedi. Konjenital malformasyonların da eşlik ettiği sekonder reflülü hastaların da dahil edildiği daha fazla sayıdaki VUR'lu hasta ile yapılacak olan bir çalışmada farklı sonuçların gözlemlenmesi beklenebilir.

Primer VUR'da AT2R A1332G ve AT1R A1166C gen polimorfizm ilişkisinin araştırıldığı, ortalama yaşı 7,5 olan primer VUR'lu 23 erkek hasta ile ürolojik anomalisi olmayan 19 sağlıklı çocuk arasında yapılan bir çalışmada AT1R/AT2R gen polimorfizm dağılımları VUR'lu hastalar ve sağlıklı kontrol grubu arasında farklı değerlendirilmemiştir(107). Bizim çalışmamızdaki VUR/kontrol grubu arasındaki AT1R/AT2R gen polimorfizmleri dağılımları farklı olmayıp, bu çalışma sonuçları ile benzerdir.

97 non-üropatik T.İYE'li ve 100 sağlıklı kontrol grubunu içeren bir başka çalışmada ACE I/D ve AT1R A1166C gen polimorfizmi ile VUR ve mesane disfonksiyonu gibi risk faktörleri olmaksızın renal skar gelişimindeki ilişki araştırılmış ve renal parankimal hasar ile gen polimorfizmi arasında bir ilişki bulunmamıştı. Bu çalışmada da önceki çalışmalarla uyumlu olarak AT1R polimorfizminin renal skar gelişimi için bir risk faktörü olduğu yönünde kanıt sağlanmamıştır (113,114,115). Bizim çalışmamızda, 50 VUR ve 50 sağlıklı çocuğun yanı sıra ,VUR saptanmayan 50 T.İYE'li (25 skar+/25 skar-) hastada AT1R A1166C /AT2R A1332G gen polimorfizm değerleri çalışıldı.Total T.İYE grubu ile kontrol grubu değerlendirildiğinde AT1R AC genotipi kontrol grubuna göre 2,7 kat yüksek ve CC genotipi kontrol grubuna göre 6 kat yüksek değerlendirildi ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Ayrıca skar (-) T.İYE'li grupta AC genotipinin kontrol grubuna göre 3,6 kat, skar(+) T.İYE'li grupta CC genotipinin kontrol grubuna göre 9,9 kat daha yüksek olduğu değerlendirildi ($p<0,05$) ve total İYE olgularında C allel sıklığının (%38.0) kontrol grubuna (%19.0) göre artmış olduğu görüldü ve istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$). AT2R gen polimorfizm değerlerine bakıldığı zaman Total İYE grubunda GG genotipinin kontrol grubuna göre 3,2 kat yüksek olup , istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) ve G allel frekansının T.İYE'li olgularda (%48.0) kontrol grubuna göre (%34.0) yüksek olduğu değerlendirilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Bizim çalışmamızdaki bu değerlere bakılarak, VUR'dan bağımsız olarak T.İYE 'ye yatkınlıkta AT1R A1166C ve AT2R A1332G polimorfizmlerinin rolü olabileceği söylenebilir. 25 skar (+)'li T.İYE hasta grubunda AT1R homozigot CC gen mutasyonunun sağlıklı gruba göre 9,9 kat, skar (-) hastaların ise heterozigot AC mutasyonunun sağlıklı gruba göre 3,2 kat yüksek olması T,İYE'de skar gelişmesinden, AT1R A1166C gen mutasyonunun risk faktörü olabileceği söylenebilir. Ancak takip ve/veya tedavi uyumsuzluğu olan skar(-) hasta grubumuzda ilerleyen zamanda skar gelişebileceği unutulmamalıdır. Bu sebeple bu sonucun desteklenmesi için daha uzun süre düzenli takibi yapılmış ve daha fazla sayıda skar+/skar- T.İYE hasta grubunda bu gen polimorfizmleri çalışılarak bu sonuçlar desteklenmelidir.

Sonuçta, tekrarlayan pyelonefrit atakları VUR olmaksızın da RN'ye sebep olmakta ve tanı/tedavide gecikme VUR'a sekonder RN'de olduğu gibi hayatı tehdit eden komplikasyonlara neden olabilmektedir. Bu gen polimorfizmlerinin anlamlı olması T. İYE 'nin genetik komponentinin de olduğunu düşündürmektedir.

SONUÇ

Çalışmamızda, skar+/- VUR'lu hastalarda ve skar+/- T.İYE'li hastalarda AT1R A1166C ve AT2R A1332G polimorfizmleri ve Ang-2mRNA değerleri çalışıldı. Sonuçlarımızda total VUR hasta grubumuz ile sağlıklı kontrol grubu arasında AT1R ve AT2R gen polimorfizmi açısından anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Ancak VUR skar (-) grupta AC genotipi kontrol grubuna göre 3 kat yüksek olup istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Total VUR hasta grubu ile kontrol grubu arasında C ve G allel sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). VUR'lu hastalarda Ang-2 mRNA değerleri 1,5 kat olmasa da 1,5 kata yakın düzeyde artmış olup, upregülasyon gözlemlendiği değerlendirildi.

T.İYE olgularında AT1R gen polimorfizm değerlerine bakıldığında, total İYE grubunda AC genotipi kontrol grubuna göre 2,7, CC genotipi kontrole göre 6 kat yüksek değerlendirildi ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). İYE skar (-) hasta grubunda AC genotipi kontrol grubuna göre 3,6 kat, İYE skar (+) hasta grubunda CC genotipi kontrol grubuna göre 6 kat yüksek değerlendirilerek istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi ($p<0,05$).

Total T.İYE olgularında AT2R gen polimorfizm değerlerine bakıldığında total İYE grubunda GG genotipi kontrol grubuna göre 3,2 kat yüksek değerlendirildi ve istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$). İYE skar +/- grubu kontrol grubu ile ayrı ayrı değerlendirildiğinde AT2R gen polimorfizminde gruplar arasında istatistiksel fark değerlendirilmedi ($p>0,05$).

T.İYE grubunda C (%38.0) ve G (%48.0) allel sıklığı kontrol grubundaki C (%19.0) ve G (%34.0) allel sıklığına göre daha yüksek değerlendirilerek istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). T.İYE'de Ang-2 mRNA değerleri ekspresyonunda artma yada azalma gözlenmemiştir.

Sonuç olarak, VUR'da renal skar gelişiminde AT1R A1166C ve AT2R A1332G gen polimorfizmleri bağımsız bir risk faktörü olarak kabul edilmeyeceği ancak VUR'dan bağımsız olarak hem AT1R A1166C, hem de AT2R A1332G gen

polimorfizmlerinin T.İYE'ye yatkınlık yaratabileceği düşünöldü. İYE skar (+) grupta homozigot CC genotipinin kontrole göre yüksek olması İYE'de skar gelişiminde AT1R A1166C gen polimorfizminin etkili olduğunu düşöndürebilir ancak bu sonuç, daha fazla sayıda ve daha uzun süre takipte olan T.İYE hastalarıyla yapılan çalışmalarla desteklenmelidir.

KAYNAKLAR

1. Wallace DMA, Rothwell DL, Williams DI: The long term follow up of surgically treated vesicoureteral reflux. Br J Urol 1978;50:479-84.
2. Stephens FD, Lengan D: The anatomical basis and dynamics of vesicoureteral reflux. J Urol 1962; 87:669-678.
3. Dillon MJ, Goonasekera CDA, Reflux nephropathy. J Am Soc Nephrol 1998 9; 2377-2383.
4. Arrant BS: vesicoureteral reflux and renal injury. Am J Kid Dis 1991,17; 491-511.
5. International reflux study committee. Medical versus surgical treatment of primary vesicoureteral reflux. Pediatrics 1981, 67;392-400.
6. Bailey RR. the relationship of vesicoureteral reflux to urinary track infection and chronic pyelonephritis-reflux nephropathy. Clin nephrol 1973,1.132-134.
7. Sirin A, Emre S, Alpay H, Nayir A, Bilge I, Tanman F. Etiology of chronic renal failure in Turkish children. Pediatr Nephrol 1995,9:549-52.
8. Polk HC Jr: Notes on galenic urulogy. Urol Surv 1965,15:25
9. Schultheiss D, Grunewald V, Jonas U. Urodynamics in anatomical work of Leonardo da Vinci (1452-1519). J Urol 1999,17:137-43.
10. Pozzi S: Üreteroverletzung bei laparatomie. Zentrbl Gynacol 1893,17:97.
11. Hutch JA: Vesicoureteral reflux in the paraplegic: Cause and correction. J Urol 1952,68:457.
12. Hodson CJ: the radiologic diagnosis of pyelonephritis. Proc R Soc Med 1959; 52.669.

13. Tanagho EA, Hutch JA, Meyers FH, Rambo on Jr: Primary Vesicoureteral reflux : Experimental studies of its etology. J Urol 1965, 93:165-176
14. Zerlin JM, Ritchey ML, Chang AC, Incidental vesicoureteral reflux in neonates with antenatally detected hydronephrosis and other renal abnormalities. Radiology 1993, 187(1) 157-160
15. Anderson NG, Abboth GD, Mogridge N, Allan RB, Maling TM, Wells JE. vesicoureteral reflux in the newborn: relationship to fetal renal pelvic diameter. Pediatr Nephrol 1997; 11(5), 610-616.
16. Jacobson SH, Hansson S, Jakobsson B. Vesico ureteric- reflux: occurrence and long term risks. Acta paediatr Suppl 1999; 88 (431). 22-30.
17. Noe HN, Wyatt RJ, Peeden JN Jr, et al. The transmission of vesicoureteral reflux from parent to child. J Urol 1992; 148: 1869-1871.
18. Zel G, Retik AB: Familial vesicoureteral reflux: a prospective study. J Urol 1982; 4: 774-778.
19. Van den abbeele AD, Yreves ST, Lebowitz RL, et al: Vesicoureteral reflux in asymptomatic siblings of patients with known reflux. Radionuclide cystography. Pediatrics 1987; 79: 147-53.
20. Ring E, Petritsch P, Riccabona M, Haim-Kuttinig M, Vilits p, Rauchenwald M. Primary vesicoureteral reflux in infant with a dilated fetal urinary tract. Eur J pediatr 1993; 152: 523-5
21. Shopner CE: Vesicoureteral reflux . five year re-evaluation. Radiology 1970, 95: 637
22. Decter RM, roth DR, Gonzalez ET: Vesicoureteral reflux in boys. J Urol 1988, 40: 1089.

23. Ander H, Şanlı Ö, Veziköüretal reflü ve megaüreter. Anafarta K, yaman Ö (çeviri editörleri), Campbell Üroloji Güneş Kitabevi , 2005,2053-2116. (Atala A, Keating Ma, Vesicoureteral reflux and megaureter. In: retik AB, Vaughan D, Vein AJ (Eds). Campbell Urology'den çeviri)
24. Noe HN: Long term result of prospectivesibling reflux screening. J Urol 1992;148:1739-
25. Puri P, Cascio S, Lakshmandass G, Colhoun E: Urinary tract infection and renal damage in sibling Vesicoureteral reflux . J Urol 1998;160:1028-30. Sadler TW: Ürogenital sistem . In: Langman's Medikal Embriyoloji (Türkçe çeviri ed: Başaklar C), 7. Baskı bölüm 15. Ankara: Palme Yayıncılık, 1996:260-97.
26. Kaefer M, Curan M, Treves ST, siblings vesicoureteral reflux in multipl gestation births, pediatrics Vol. no.4 april 2000, p. 800-804.
27. Williams G, Craig JC. Diagnosis and management of urinary tract infections. In:geary DF, Schaefer F (eds). Comprehensive pediatric nephrology .Philadelphia 2008; 539-548.
28. Bailey RR. Vesicoureteral reflux in healthy infants and children. In Hodson J, Kincaid Smith P, eds. Reflux Nephropathy. New York, Masson, 1979
29. Belman AB: Vesicoureteral reflux , Ped Clin North Am 1997;44:1171-1190.
30. Bensman A, Dunand O, Ulinski T. Urinary tract infection In. Avner ED, Harmon WE, Niaudet P, Yoshikawa N (eds). Pediatric Nephrology,6th ed. Lippincott Williams-Wilkins, Baltimore 2009,1299-1310.
31. Günaydın C. Tekrarlayan üriner sistem enfeksiyonlarında veziköüretal reflü ve renal skar sıklığı. Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul,2008.

32. Mathews R, Mattao TK, vesicoureteral reflux. In: Geary DF, Schaefer F (Eds). *Comprehensive pediatric nephrology*. Philadelphia 2008, 549-559.
33. Iebowitz RL. The detection and characterization of vesicoureteral reflux in the child, 1992 Nov;148. 1640-2
34. Mattao TK, Mathews R. Vesicoureteral reflux and renal scarring. In: Avner ED, Harmon WE, Niaudet P, Yoshikawa N. (eds). *Pediatric Nephrology*, 6th ed. Lippincott Williams Baltimore 2009: 1311-1336.
35. Zderic SA, Infection of the urinary tract and vesicoureteral reflux. In: Taeusch HW, Ballard RA (Eds). *Avery's diseases of the newborn*, 7th ed. W.B. Saunders, Philadelphia 1998; 1171-6.
36. Hodson CJ: The Radiologic of pyelonephritis. *Proc C Soc Med* 1959; 52: 669.
37. Hodson CJ, Edwards D: Chronic pyelonephritis and vesicoureteral reflux. *Clin Radiol* 1960; 11: 219
38. Bailey RR: The relationship of vesicoureteral reflux to urinary tract infection and chronic pyelonephritis-reflux nephropathy. *Clin Nephrol* 1973;1:132
39. Hinchliffe SA, Chan YF, Jones H, Chan N, Kreczy A and Velzen D: renal hypoplasia and postnatally acquired cortical loss in children with vesicoureteral reflux. *Pediatr Nephrol* 1992;6. 439.
40. Filly R, Friedland GW, Gowan DE, Fair WR: development and progression of clubbing and scarring in children with recurrent urinary tract infections. *Radiology* 1974; 113(1):145-153.
41. Huland H, Busch R. Pyelonephritic scarring in 213 patients with upper and lower urinary tract infections: long term followup. *J Urol* 1984; 132(5).939-939.

42. Winberg J, Bollgren I, Kallenius G, Mollby R, Svenson SB: Clinical Pyelonephritis and fokal renal scarring. A selected review of pathogenesis, prevention and prognosis. *Pediatr Clin North Am* 1982; 29(4):801-814
43. Goldraich NP, Goldraich IH, Anselmi OE, Ramos OL. Reflux nephropathy: The clinical picture in South Brazilian children. *Contrib Nephrol* 1984;39:52-67
44. Funston MR, Cremin BJ. Intrarenal reflux-papillary morphology and pressure relationship in children's necropsy kidneys. *Br J Radiol* 1978;51 (609):665-670.
45. Ransley P, Ridson R. Renal papillae and intrarenal reflux in the pig. *Lancet* 1974; 2:11-14
46. Ransley P, Ridson R. Renal papillae morphology in infants and young children . *Urol res* 1975;3:111-113
47. Rushton HG, Majd M, Jantusch B, Wiedermann BL, Belman AB. Renal scarring following reflux and nonreflux pyelonephritis in children : eveluation with 99mtechnetium-dimercaptosuccinic acid scintigraphy. *J Urol* 1992;147(5):1327-1332.
48. Rushton HG. The eveluation of acute pyelonephritis and renal scarring with 99mtechnetium-dimercaptosuccinic acid renal scintigraphy: evolving concepts and future directions. *Pediatr Nephrol* 1997;11(1): 108-120.
49. Svanborg Eden C, Hausson S, Jodal U, Lidin –Janson G, Lincoln K, Linder H, Lomberg H, de Man P, Marild S, Martinell J,et al. Host-parasite interaction in the urinary tract. *J Infect Dis* 1988; 157(3):421-426.
50. Vaisanen-Rhen V, Elo J, Vaisanen E, Siitonen A, Orskov I, Orskov F, Svenson SB, Makela PH, Korhonen TK. P-fimbriated clones among uropathogenic *Escherichia coli* strains. *Infect Immun* 1984; 43(1). 149-155

51. Jakobsson B, Berg U, Svensson L. Renal scarring after acute pyelonephritis. Arch Dis Child 1994; 70(2):111-115
52. Kallenius G, Mollyby R, Svenson SB, Helin I, Hultberg H, Cedergren B, Winberg J. Occurrence of P-fimbriated Escherichia coli in urinary tract infections. Lancet 1981;19(2):1369-1372.
53. Roberts JA. Tropism in bacterial infections: urinary tract infections . J Urol 1996;156(5): 1552-1559
54. Roberts JA, Domingue GJ, Martin LN, Kim JC; Rangan SR. Immunology of pyelonephritis in the primate model. Effect on immunosuppression. Invest Urol 1981;19(3): 148-153
55. Rolleston GL, Maling TM; Hodson CJ. Intrarenal reflux and the scarred kidney. Arch Dis Child 1974; 49(7):531-539.
56. Shah KJ, Robins DG, White RH. Renal scarring and vesicoureteric reflux. Arch Dis Child 1978;53(3):210-217.
58. Orellana P, Baquedano P, Rangarajan V, Zhao JH et al. Relationship between acute pyelonephritis, renal scarring and vesicoureteral reflux. Pediatr Nephrol 2004;9:1501-1505.
59. Jodal U, Winberg J, Management of children with unobstructed urinary tract infection. Pediatr Nephrol 1987;1(4):647-656.
60. Skoog SC, Belman AB, Majd M. A nonsurgical approach to the management of primary vesicoureteral reflux. J Urol 1987;138(4):941-946.
61. Jacobson SH, Klotz O, Eriksson CG, Lins, B. Tidgren, J. Winberget. Development of hypertension and uraemia after pyelonephritis in childhood: 27 year follow up. Br Med J 1989; 299:703

- 62..Vallee JP, Vallee PD, Greenfield SP, Wan J , Springate J: Contemporary incidence of morbidity related to vesicoureteral reflux. *Urology* 1999; 53:812-5.
63. 17.Skoog SC, Belman AB, Majd M. A nonsurgical approach to the management of primary vesicoureteral reflux. *J Urol* 1987; 138: 941.
64. Birmingham reflu study group: Prospective trial of operative versus non-operative treatment of severe vesicoureteral reflux in children: 5 year observation. *Br Med J (Clin Res Ed)*1987; 295:237.
65. Eddy AA: Molecular basis of renal fibrosis. *Pediatr Nephrol* 2000; 15:290-301
- 66 .Heptinstall RH:Urinary tract infection, pyelonephritis, reflux nephropathy. Heptinstall's pathology of the kidney (Eds) Heptinstall RH: Lippincott Raven Publishers, Philadelphia. 1992;pp 725-783.
67. Johnson RJ. Cytokines , growth factors and renal injury:where do we go now? *Kidney Int* 1997;63:S2-6
- 68 .Topley N, Steadman R, Mackenzie R, Knowlden JM, Williams JD. Type 1 fimbriate strains of *Escherichia coli* initiate renal parenchymal scarring. *Kidney Int* 1989; 36(4):609-616
69. Glauser MP, Meylan P, Bille J. The inflammatory response and tissue damage. The example of renal scars following acute renal infection. *Pediatr Nephrol* 1987;1(4): 615-622.
70. Border WA, Ruoslahti E. Transforming growth factor-beta in disease :the dark side of tissue repair. *J Clin Invest* 1992;90(1):1-7.
- 71..Goumenos DS; Tsamandas AC, Oldroyd S, Sotsiou F, Tsakas S, Petropoulou C, Bonikos D, El Nahas AM. Transforming growth factor-beta(1) and myofibroblasts: a potential pathway towards renal scarring in human glomerular disease. *Nephron* 2001;87(3):240-248.

72. Border WA, Noble NA. TGF β in kidney fibrosis: a target for gene therapy. *Kidney Int* 1997;51(5):1388-1396.
73. Border WA, Noble NA. Interactions of transforming growth factor-beta and angiotensin 2 in renal fibrosis. *Hypertension* 1998;31:181-188.
74. Remuzzi G, Ruggenti P, Benigni A. Understanding the nature of renal disease progression. *Kidney Int* 1997;51(1):2-15.
75. Abbate M, Benigni A, Bertani T, Remuzzi G. Nephrotoxicity of increased glomerular protein traffic. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14(2):304-312
76. Strutz F, Muller GA. Renal fibrogenesis and progression. In immunologic renal disease (Eds). Neilson EG, Couser WG. Lippincott-Raven Philadelphia New York 1997 p.705-726
77. Chapman CJ, Bailey RR, Janus ED, Abbott GD, Lynn KL. Vesicoureteric reflux: segregation analysis. *Am J Med Genet* 1985; 20(4):577-584.
78. Puri p, Cascio S, Lakshmandass G, Colhoun E. Urinary tract infection and renal damage in sibling vesicoureteric reflux. *J Urol* 1998; 160(3 pt 2): 1028-1030
79. Feather SA, Malcolm S, Woolf AS, Wright V, Blaydon D, Reid CJ, Flinter FA, Proesmans W. Primary, nonsyndromic Vesicoureteric reflux and its nephropathy is genetically heterogeneous with a locus on chromosome 1. *Am J Hum Genet* 2000; 66(4):1420-1425.
80. Haszon I, Friedman AL, Papp F, Bereczki C, Baji S, Bodrogi T, Karoly E, Endreffy E, Turi S. ACE gene polymorphism and renal scarring in primary vesicoureteric reflux. *Pediatr Nephrol* 2002;17:1027-1031
81. Dudley J, Johnston A, Gardner A, Mac Graw M. The deletion polymorphisms of the ACE gene is not independent risk factor for renal scarring in children with vesico-ureteric reflux. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17:652-654.

82. Allen AM, Zhuo J, Mendelsohn FA. Localization of angiotensin AT1 and AT2 receptors. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10 suppl:23-29.
83. Kagami S, Border WA, Miller DE, Noble NA: Angiotensin 2 stimulates extracellular matrix protein synthesis through induction of transforming growth factor-beta expression in rat glomerular mesangial cells. *J Clin Invest* 1994;93:2431-2437.
84. Sun Y, Zhang J, Zhang JQ, Ramirez FJ: Local angiotensin 2 and transforming growth factor-beta 1 in renal fibrosis of rats. *Hypertension* 2000; 35(5):1078-1084
85. Rothman KJ, Greenland S (2005) Causation and causal inference in epidemiology. *Am J Public Health* 1995(Suppl 1):S144–S150
86. Feldman HI, Appel LJ, Chertow GM, Cifelli D, Cizman B, Daugirdas J, Fink JC, Franklin-Becker ED, Go AS, Hamm LL, He J, Hostetter T, Hsu CY, Jamerson K, Joffe M, Kusek JW, Landis JR, Lash JP, Miller ER, Mohler ER 3rd, Muntner P, Ojo AO, Rahman M, Townsend RR, Wright JT (2003) The Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) Study: design and methods. *J Am Soc Nephrol* 14:S148–153
87. Gelfand MJ, Koch BL, Cordero GG, Salmanzadeh A; Gartside PS: Vesikoureteral reflux: subpopulations defined by clinical variables; *Pediatr Radiol* 2000; 30:121.
88. Brock 3rd, J, Hunley T, Adams M, Kon V; role of the renin-angiotensin systems in disorders of urinary tract. *J Urol* 1998; 160:1812-9
89. Goldraich NP, Goaldraich IH: Follow up conservatively treated children with high and low grade vesikoureteral reflux. A prospective study. *J Urol* 1992;148:1688

90. Matsuoka H, Oshima K, Sakamoto K; Renal pathology in patients, with reflux nephropathy. *Eur Urol* 1994; 26: 153-159
91. Marcussen N, A tubular glomeruli and the structural basis for chronic renal failure . *Labaratory investigation* 1992, 66.265-284
92. Gumprecht HT, Zychma MJ et al (End-stage Renal Disease Study Group). Anjyotensin-1 converting enzym gene insertion/deletion and angiotensinogen M235T polymorphisms: risk of chronic renal failure. *Kidney Int* 2000; 58.513-519
93. Loveti E, Richard A, Frey BM, Frey FJ, Ferrari P. Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin aldesterone system in end stage renal disease. *Kidney Int* 2001;60(1).46-54.
94. Buraczynska M, Ksiazek p, Zaluska W, Spasiewiez D, Nowicka T, Ksiazek A. Angiotensin 2 tip 1 gene polymorphisim in end-stage renal disease. *Nephron* 2002;92;51-55
95. Woolf AS, Winyard PJ, Molecular mechanisims of human embryogenesis .developmental pathogenesis of renal tract malformations. *Pediatr Dev pathol.*2002 Mar-Apr; 5.(2):108-129
96. Esther CR, Howard TE, Marino EM, Godard JM, Capecchi a genetic polymorphism in the ACE gene is a risk factor MR, Bernstein KE. Mice lacking angiotensin-converting for progressive renal destruction in several renal dis- enzyme have low blood pressure, renal pathology and reduced male fertility. *Lab Invest* 1996; 74: 953–6
97. Tsuchida S, Matsusaka T, Chen X et al. Murine double In summary, the occurrence of a mutation of the AT2 nullizygoties of angiotensin type 1A and 1B receptor genes receptor,. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 309A
98. Nishimura H, Yerkes E, Schulman M et al. The angiotensin type 2 receptor null mutant mice: A model of the diverse spectrum of congenital urinary tract anomalies in humans. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 364

99. Ardaillou R. Angiotensin 2 receptors . J Am Soc Nephrol 1999,10:30-39
100. By Boris C., Ude R.et al. Upregulation of angiotensin 2 receptors in reflux nephropathy. Journal of pediatric Surgery:2002; 37:251-255.
101. Siragy HM, Carey RM: the subtype 2 angiotensin2 receptor mediates renal production of NO in conscious rats. J Clin invest 1997; 100:264-269
102. Rafael P, sefracin M, Eliecer C. Et al. Renin –angiotensin system polymorphisms and renal scarring. Pediatr Nephrol 2003; 18:110-114
103. Tiret L, Bonnardeaux A, Poirier O, Ricard S, Marquex-Vidal P, Evans A, Arveiler D, Luc G, Kee F, Ducimetiere P Synergistic effects of angiotensin-converting enzyme gene and angiotensin-II type 1 receptor gene polymorphisms on risk of myocardial infarction. Lancet 1994;344:910–913
104. Samani NJ, Thompson JR, O’Toole L, Channer K, Woods KL A meta-analysis of the association of the deletion allele of the angiotensin-converting enzyme gene with myocardial infarction. Circulation 1996; 94:708–712
105. Ozen A, Alikasifoglu M, Saatci U, Bakkaloglu A, Besbas N, Kara N, et al Implications of certain gene polymorphisms in scarring in vesicoureteric reflux: importance of ACE polymorphism. Am J Kidney 1999; 34:140–145
106. Hohenfellner K, Hunley TE, Yerkes E, Habermehl P,Hohenfellner R, Kon V Angiotensin II type 2 receptor in the development of vesicoureteral reflux. BJU Int 1999 83:318–333
107. Hohenfellner K, Hunley T.E et al. Angiotensin-2 type 2 receptor in the development of vezikoüreteral reflux. BJU International 1999,83:318-322,
108. Kakinuma Y, Fogo A, Inagami T, Ichikawa I. Intrarenal localization of angiotensin II type 1 receptor mRNA in the rat. Kidney Int 1993; 43: 1229–35
109. Schuetz S, Le Moullec J-M, Corvol P, Gasc J-M. Early expression of all the components of the renin-angiotensin-system in human development. Am J Pathol 1996; 149: 2067–79

110. Kakuchi J, Ichiki T, Kiyama S et al. Developmental expression of renal angiotensin II receptor genes in the mouse. *Kidney Int* 1995; 47: 140–7
111. Yerkes E, Nishimura H, Hohenfellner K et al. Association between the angiotensin type 2 receptor genotype and congenital urinary tract anomalies in two independent cohorts. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 397A.
112. Goldraich NP, Ramos OC, Goldraich IH. Urography versus DMSA scan in children with VUR. *Pediatr Nephrol* 1989; 3 (1):1-5.
113. Bonnardeaux A, Davies E, Jeunemaitre X et al. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in human essential hypertension. *Hypertension* 1994; 24:63-9