

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**AKUT PİYELONEFRİT- MATRİKS METALLOPROTEİNAZ-9,
METALLOPROTEİNAZ DOKU İNHİBİTÖRÜ-1 VE
HYALURONİK ASİT ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ**

Dr. Aslı KAVAZ

**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Mesiha EKİM**

**ANKARA
2007**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**AKUT PİYELONEFRİT- MATRİKS METALLOPROTEİNAZ-9,
METALLOPROTEİNAZ DOKU İNHİBİTÖRÜ-1 VE
HYALURONİK ASİT ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ**

Dr. Aşlı KAVAZ

**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Mesiha EKİM

**Bu tez, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırma Fonu tarafından
20050809214 Proje numarası ile desteklenmiştir.**

ANKARA

2007

İÇİNDEKİLER

İçindekiler	i
Kısaltmalar Dizini	iv
Tablolar Dizini	v
Şekiller Dizini	vi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Epidemiyoloji	3
2.2. Patogenez	4
2.2.1. Konağa ait faktörler	4
2.2.2. Bakteriye ait risk faktörleri	5
2.3. Akut piyelonefritte skar oluşumu	6
2.3.1. Vezikoureteral reflunun renal parankimal skar gelişimindeki önemi	7
2.3.2. Hasta yaşının renal parankimal skar gelişimindeki önemi	8
2.3.3. Böbrek hücrelerine üropatojenik bakterinin doğrudan etkisinin renal parankimal skar gelişimindeki önemi	8
2.3.4. Üroepitel hücrenin inflamasyon yanıtının renal parankimal skar gelişimindeki önemi	11
2.3.5. Nötrofillerin renal parankimal skar gelişimindeki önemi	12
2.3.6 Reperfüzyon ve serbest oksijen radikallerinin renal parankimal skar gelişimindeki önemi	13
2.3.7 Fibrozis ve renal parankimal skar gelişimindeki önemi	13
2.3.8 Enfeksiyonlara karşı oluşan yanıtta genetik farklılıkların renal parankimal skar gelişimindeki önemi	19
2.3.9 APN sırasında inflamatuvar yanıtta ve renal parankimal skar gelişiminde tedavinin önemi	20
2.4 İdrar yolu enfeksiyonlarında tanı	20
2.4.1 Öykü ve fizik muayene	20

2.4.2 Laboratuvar incelemeleri	21
2.4.3 Görüntüleme yöntemleri	22
2.5 İdrar yolu enfeksiyonlarında tedavi	23
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	25
3.1. Hastaların ve kontrol grubunun seçimi	25
3.2 Akut piyelonefrit tanısı konulurken dikkate alınan veriler	26
3.2.1. Akut faz reaktanlarının değerlendirilmesi.....	26
3.2.2. İdrar incelemesi ve idrar kültürünün değerlendirilmesi	26
3.2.3. Radyolojik incelemelerin değerlendirilmesi	27
A) DMSA sintigrafisi.....	27
B) Üriner sistem ultrasonografisi	27
C) Voiding sistouretrografi	28
3.2.4. Serum MMP-9, TIMP-1 ve Hyaluronik asit(hyaluronan) ölçümü.....	28
A. MMP-9 (Matriks metalloproteinaz 9) kitinin içerdiği gereç ve solüsyonlar.....	28
B. MMP-9 test protokolü	29
C. TIMP-1 (Metalloproteinaz Doku İnhibitörü-1, Tissue inhibitor of metalloproteinases-1) kitinin içerdiği gereç ve solüsyonlar	30
D. TIMP-1 test protokolü.....	30
E. Hyaluronik asit (Hyaluronan) kitinin içerdiği gereç ve solüsyonlar	31
F. Hyaluronik Asit test protokolü	32
3.3 İstatiksel değerlendirme	33
4. BULGULAR.....	34
4.1 Kontrol grubunun klinik özellikleri ve MMP-9, TIMP-1, Hyaluronik asit (hyaluronan) düzeyleri	37
4.2 Hasta grubunun klinik ve laboratuvar özellikleri.....	37
4.3 Hasta grubunun laboratuvar incelemeleri	38
4.3.1 İdrar incelemesi ve kültürü.....	38
4.3.2. Akut faz reaktanları.....	38
4.3.3. Radyolojik incelemeler	38
A. DMSA sintigrafisi bulguları.....	38
4.3.4 Hasta grubunun MMP-9, TIMP-1 ve Hyaluronik asit düzeyleri	39

4.4 Hasta grubu ile kontrol grubunun yaş ve cinsiyet özelliklerinin karşılaştırılması.....	40
4.5 Hasta grubunun DMSA bulgusu olan ve olmayan hastaların yaş ve cinsiyet özellikleri açısından karşılaştırılması	40
4.6 DMSA bulgusu olan ve olmayan hastaların akut faz reaktanlarının karşılaştırılması.....	40
4.7 DMSA bulgusu olan ve olmayan hastaların Hyaluronik Asit düzeylerinin karşılaştırılması.....	41
4.8 DMSA bulgusu olan ve olmayan hastaların MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri açısından karşılaştırılması.....	41
4.9 Hasta grubu ile kontrol grubunun Hyaluronik Asit (Hyaluronan) düzeylerinin karşılaştırılması.....	42
4.10 Hasta grubu ile kontrol grubunun MMP-9, TIMP-1 düzeyleri açısından karşılaştırılması.....	42
5. TARTIŞMA	44
6. ÖZET	52
7. SUMMARY	54
8. KAYNAK	56
9. EKLER.....	67

KISALTMALAR DİZİNİ

AFR: Akut faz reaktanları

APN: Akut piyelonefrit

CRP: C reaktif protein

CXCR-1: IL-8 reseptörü

DMSA: Teknesyum -99m işaretli dimerkaptosüksinik asit sintigrafisi

EÇH: Eritrosit çökme hızı

ESM: Ekstraselüler matriks

HA: Hyaluronik asit (hyaluronan)

Hly A :Alfa hemolizin

ICAM-1: Hücre içi adezyon molekülü

IL-1 α : İnterlökin-1 alfa

IL-6: İnterlökin- 6

IL-8: İnterlökin- 8

İYE: İdrar yolu enfeksiyonu

LPS: Lipopolisakkarit

MMP: Matriks metalloproteinaz

TIMP-1: Metalloproteinaz Doku İnhibitörü-1 (Tissue inhibitor of metalloproteinases-1)

TLR-4: Toll benzeri reseptör 4

TNF- α : Tümör nekrozis faktör alfa

USG: Ultrasonografi

VUR: Vezikoureteral reflü

VSUG: Voiding Sistoüretrografi

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Üriner sistemde enfeksiyon yapan mikroorganizmalar

Tablo 2: Kontrol grubunu oluşturan çocukların yaş, cinsiyet, serum MMP-9, TIMP-1 ve Hyaluronik asit düzeyleri

Tablo 3: Hasta grubunu oluşturan çocukların yaş, cinsiyet, akut faz reaktanları ve MMP-9, TIMP-1 ve Hyaluronik asit düzeyleri

Tablo 4: Hastaların yakınmaları

Tablo 5: Hasta grubunu oluşturan çocukların akut faz reaktanlarının ortalama sonuçları

Tablo 6: Hastaların akut dönemde (ilk bir hafta içinde) yapılan DMSA sintigrafisi sonuçları

Tablo 7: Hasta grubunun MMP-9, TIMP-1 ve Hyaluronik asit (Hyaluronan) düzeylerinin ortalaması

Tablo 8: Hasta grubu ile kontrol grubunun yaş ve cinsiyet özellikleri

Tablo 9: DMSA bulgusu olan ve olmayan hastaların yaş ve cinsiyet özellikleri

Tablo 10: DMSA bulgusu olan ve olmayan hastaların AFR karşılaştırılması

Tablo 11: DMSA bulgusu olan ve olmayan hastaların Hyaluronik Asit düzeylerinin karşılaştırılması

Tablo 12: DMSA bulgusu olan ve olmayan hastaların MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerinin karşılaştırılması

Tablo 13: Hasta grubu ve kontrol grubunun Hyaluronik Asit düzeylerinin karşılaştırılması

Tablo 14: Hasta grubu ile kontrol grubunun MMP-9, TIMP-1 düzeylerinin karşılaştırılması

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 1:** Bakterilerin üroepitelyal hücelere yapışması ve toksinlerin salınımı
- Şekil 2:** Uroepitelyal hücelerin aktivasyonu
- Şekil 3:** MMP'ların düzenlenmesi
- Şekil 4:** Matriks metalloproteinazların inflamasyondaki yeri
- Şekil 5 :** DMSA Bulgusu olan ve olmayan hastalarla kontrol grubunun MMP-9, TIMP-1 ve Hyaluronik asit düzeylerinin grafik ile gösterilmesi

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İdrar yolu enfeksiyonları (İYE) çocukluk çağında sık görülen enfeksiyonlardan biridir ve morbiditesi çok yüksektir. Tekrarlayan ateşli idrar yolu enfeksiyonu geçiren ve bunun sonucunda böbrekte skar oluşan çocuklarda hipertansiyon, böbrek fonksiyonlarında ilerleyici bozulma ve sonuç olarak böbrek yetmezliği gelişimi uzun dönem komplikasyonlar olarak karşımıza çıkabilir.

Ülkemizde periton diyalizi yapılan hastaların %38.8'inde kronik böbrek yetmezliğine yol açan nedenin vezikoüretal reflü ve idrar yolu enfeksiyonları olduğu bildirilmiştir (1,2). Renal parankimal skar oluşumunda vezikoüretal reflü, erken yaş, tedavide gecikme ve tekrarlayan ateşli idrar yolu enfeksiyonları risk faktörleri olarak bilinmektedir ancak halen skar oluşum mekanizmaları net olarak bilinmemekte, genellikle enfeksiyon sırasında salgılanan sitokinlere ve büyüme faktörlerine bağlı olduğu düşünülmektedir.

Matriks Metalloproteinaz-9 (MMP-9), Metalloproteinaz Doku İnhibitörü-1 (TIMP-1, MMP-9'un ana inhibitörü) ve Hyaluronik asit (hyaluronan, HA) parankimal organlarda inflamasyon oluşmasında önemli rol oynayan sitokinlerdir (3, 4, 5). Matriks metalloproteinaz-9 nötrofiller ve makrofajlardan salgılanmaktadır. Aynı zamanda glomerüler epitelyal hücreler, mezengial hücreler ve tübüler hücreler de bu sitokini üretmektedir. İnflamasyon sırasında ve sonrasında ortaya çıkan doku hasarı ve gelişen renal parankimal hasarla MMP-9 arasında ilişki olduğu gösterilmiş olsa da bu konudaki çalışmalar son derece kısıtlıdır.

Hyaluronik asit (hyaluronan) ise doku yaralanmaları, kan kayıpları, şok ve sepsis durumlarında salgılanan ve özellikle karaciğerde gelişen fibrozisten sorumlu olan önemli bir sitokindir ve şimdiye kadar böbreklerde gelişen parankimal skarla olan ilişkisi tam olarak belirlenmemiştir.

Prospektif olarak planlanan bu çalışmada akut piyelonefritlerde akut dönemde MMP-9, TIMP-1 ve Hyaluronik asit (hyaluronan) düzeylerinin belirlenmesi ve renal

parankimal skar gelişen hastalarda skarla MMP-9, TIMP-1 ve Hyaluronik asit düzeyleri arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmadan elde edilecek sonuçlarla, skar oluşumu yönünden risk gruplarının belirlenmesi ve risk grubundaki çocukların idrar yolu enfeksiyonu tanısı aldığında daha erken ve yoğun tedavi alması amaçlanmış ve ileriki yıllarda bu sitokinlere yönelik yeni tedavi yaklaşımlarının ortaya atılmasına da yol gösterici olabilmesi hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

İdrar yolu enfeksiyonları (İYE) çocukluk çağında üst solunum yolu enfeksiyonlarından sonra en sık karşılaşılan enfeksiyondur (6). İdrar yolu enfeksiyonları karşımıza asemptomatik bakteriüriden akut piyelonefrite kadar değişen klinik bulgularla çıkmaktadır. Etken mikroorganizmanın kolonize olduğu bölgeye göre piyelonefrit, sistit ve üretrit gibi isimlerle tanımlanmaktadır.

2.1. Epidemiyoloji: İdrar yolu enfeksiyonlarının sıklığı; yaş, cinsiyet ve kullanılan tanı yöntemlerine bağlı olarak farklılık göstermektedir (7,8). Amerikan Pediatri Akademisine göre iki yaş altı ateşli çocuklardaki sıklığı % 5'in üzerindedir (9). Tüm yaş grupları dikkate alındığında kızlarda % 3-5, erkeklerde % 1 oranında görülmektedir (10).

İdrar yolu enfeksiyonlarının kız çocuklardaki sıklığı ortalama 3 yaşta artmaktadır. Bu yaş tuvalet alışkanlığının başladığı zamana rastlamaktadır (11). Erkek çocuklarda ise en sık olarak yaşamın ilk yılında görülmektedir.

Üriner sisteme kolonize olabilen her türlü mikroorganizma (mantar, parazit, virus) idrar yolu enfeksiyonuna yol açabilse de en sık karşılaşılan etkenler gram (-) enterik bakterilerdir. Bu grup içerisinde ilk sırayı E. coli almaktadır (% 75-90) (12). En sık görülen gram (+) etkenler stafilokoklar ve enterokoklardır. Yenidoğan döneminde Klebsiella ve grup B streptokoklar, sünnnet olmamış erkek çocuklarda ve taşı olanlarda Proteus, ergenlik dönemindeki kız çocuklarda S. Albus diğer enfeksiyon etkenleri olarak karşımıza çıkmaktadır. Üriner sistemde doğuştan anormallik olanlarda ise Pseudomonas aeruginosa, Enterococcus spp, Staphylococcus aureus/epidermidis, grup B streptokok etken olarak karşımıza çıkabilmektedir. İdrar yolu enfeksiyonuna neden olabilecek diğer mikroorganizmalar tablo 1'de gösterilmiştir (12).

Tablo 1: Üriner sistemde enfeksiyon yapan mikroorganizmalar

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

Chon et al. Pediatric urinary tract infections. Pediatr Clin North Am. 2001; 48: 1443 (12)

2.2. Patogenez: İdrar yolu enfeksiyonuna yol açan etkenlerin hemen tamamı perineal bölgeye yerleşmiş olan sindirim sistemi kaynaklı bakterilerin alt idrar yollarından yukarıya doğru ilerleyerek üst idrar yollarına ulaşması sonucu oluşmaktadır. Bakteriler üretra aracılığıyla mesaneye daha sonra üreterler yoluyla böbreğe kadar ulaşabilmektedir. Vezikoureteral reflü veya mesane fonksiyon bozukluğu olanlarda ise enfeksiyonun böbreğe ulaşabilme olasılığı artmaktadır. Yenidoğan dönemi dışında bakterinin kan yoluyla yayılarak böbreğe ulaşip enfeksiyona neden olması daha az görülmektedir (10).

İdrar yolu enfeksiyonu gelişimini belirleyen konağa ve bakteriye ait risk faktörleri bulunmaktadır.

2.2.1 Konağa ait risk faktörleri: Üriner sistem normal koşullarda üroepitelyal hücrelerle kaplı, dış ortama kapalı, steril bir alandır. İdrar yolu enfeksiyonu oluşmasını engelleyen en önemli faktör yukarıdan aşağıya doğru olan idrar akımının

mekanik etkisidir. Bu yıkama etkisi ile üriner sistem bakterilerden temizlenmektedir (11).

İdrarın pH'sının düşük olması, içerisinde bulunan polimorfonükleer hücreler ve Tamm-Horsfall glikoproteini bakterilere karşı koruyucu etki sağlamaktadır (13).

Mesanein sahip olduğu üroepitelyal hücrelerin fagositoz yeteneği, bakterilerin yapışmasını engelleyen sekretuar Ig A varlığı da enfeksiyon gelişimini önlemektedir.

Yenidoğan ve süt çocuğu döneminde immün sistemin tam olarak gelişmemiş olması nedeniyle İYE'na yatkınlık artmaktadır. Kız çocuklarda kısa üretraya bağlı olarak mikroorganizmaların alt idrar yolunda üst idrar yoluna kolaylıkla ulaşmaktadır. Sünnnet olmamış veya fimozisi olan erkek çocuklarda mikroorganizmanın yüksek konsantrasyonda bulunması nedeniyle enfeksiyona yatkınlık artmaktadır. Benzer olarak kız çocuklarda labial yapışıklık varlığında idrar yolu enfeksiyonuna yatkınlık artmaktadır. Üropatojenlerin yetersiz temizlenmesine yol açan vezikoüreteral reflü, posterior üretral valv varlığı, nörojenik mesane gibi üriner sistemde fonksiyonel bozukluklara yol açan durumlarda mesanein tam olarak boşaltılamaması İYE oluşumunu kolaylaştırmaktadır. Antibiyotik kullanımına bağlı olarak üretra çevresindeki floranın bozulması, arkadan öne temizlik yapılması sonucu mikroorganizmaların idrar yoluna bulaşması konakçıya ait İYE oluşumunu kolaylaştıran risk faktörleridir (14, 15).

2.2.2. Bakteriye ait risk faktörleri: İdrar yolu enfeksiyonu oluşumunda ilk basamak, enfeksiyon oluşturma yeteneğine sahip bakterilerin üriner sisteme yerleşmesidir. En sık İYE etkeni olarak karşımıza çıkan E. coli türlerinin sahip olduğu, bakterinin üroepitelyal hücrelere yapışmasının sağlayan fimbriyalar, inflamasyon gelişmesini sağlayan O antijeni ve fagositoza karşı direnci arttırarak bakterinin dokularda yaşam süresini uzatan K antijeni enfeksiyon oluşumunu kolaylaştırmaktadır (8, 16).

İdrar yolu enfeksiyonunun ağırlığını E. coli türlerinin üroepitelyal hücrelere yapışma yetenekleri belirlemektedir. Üroepitelyal hücrelere yapışmayı sağlayan fimbriyalar Tip I ve Tip II olmak üzere iki tiptir. Tip I fimbriya birçok E. coli türünde bulunmaktadır. Bakterinin üroepitelyal hücrelere Tip I fimbriya ile bağlanması, bu hücrelerin yüzeyinde bulunan D-Mannoz tarafından engellenmektedir. Tip II fimbriya ise sadece bazı E. coli suşlarında bulunmaktadır ve mannoza dirençlidir. Bu fimbriyanın bağlanma noktası hem üroepitelyal hücrelerin hem de eritrositlerin yüzeyinde bulunmaktadır. Tip II fimbriya P kan grubu eritrositler ile aglütine olabilme özelliğinden dolayı P fimbriya olarak da adlandırılmaktadır. P-fimbriyaya sahip bakterilerin piyelonefrite yol açma olasılığı daha yüksektir. E.coli'nin APN yapan türlerinin % 76-94'ü P-fimbriya taşımakta iken sistit yapan türlerde bu oran % 19-23'tür (10).

2.3 Akut Piyelonefritte Skar Oluşumu :

İdrar yolu enfeksiyonları çocuklarda sık olarak karşımıza çıkmaktadır. Yapılan çalışmalarda, DMSA (99m Tc- dimerkaptosüksinik asit ile inceleme) ile ateşli İYE geçiren çocuklar incelendiğinde bunların % 50-75 'inde akut dönemde böbrek parankiminde enfeksiyona bağlı hasar geliştiği gösterilmiştir (17, 18). Bu çocukların yaklaşık %20-40'ında ise kalıcı böbrek hasarı yani renal parankimal hasar gelişmektedir. Renal skarın etyolojisi ve patogenezi halen net olarak bilinmemektedir. Vezikoureteral reflü varlığı, ateşli ilk idrar yolu enfeksiyonunu küçük yaşta geçirme, tedaviye başlamanın gecikmesi ve tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonları böbrek hasarını kolaylaştırırken, tedaviye erken başlanması, dikkatli bir radyolojik inceleme ve yakın izlem İYE sonrası gelişen komplikasyonların sıklığını belirgin olarak azaltmaktadır.

İdrar yolu enfeksiyonu, bakterinin üroepitelyuma yapışarak virulans faktörleri ile mukozada inflamasyon yanıtını tetiklemesi ile başlamaktadır. Sitokinler ve kemokinler gibi inflamasyon mediatörlerinin hızlı salınımı bu bölgeye inflamatuvar hücrelerin göçüne, makrofajların aktive olmasına, T lenfositlerin farklılaşmasına, akut faz reaktanlarının üretilmesine ve mesangial hücrelerde proliferasyona yol

açmaktadır. Bakteri ile savaş sırasında granulositik enzimler salınmakta ve oksidatif yanıt ortaya çıkmaktadır. İnflamatuvar yanıt patojenik bakteriye karşı önemli bir savunma mekanizmasıdır fakat bazen bu durum doku fibrozisine yol açarak konak için zararlı hale gelebilmektedir. Bakterinin kendisi de üroepitelyuma direk etki ederek hücre ölümüne yol açabilmektedir (19).

2.3.1.Vezikoureteral reflunun renal parankimal skar gelişimindeki önemi :

Eski yıllarda yapılan çalışmalarda VUR'nün renal parankimal skar gelişiminde önemli bir risk faktörü olduğu belirtilmekteydi (20). Son yıllarda ise son dönem böbrek yetmezliği riskinin VUR tedavisi ile belirgin olarak azaltılmadığına dair kanıtlar bulunmuş ve bu nedenle renal hasarın sonradan kazanılmayıp intrauterin dönemde var olduğu tezleri öne sürülmüştür (21). Renal hasarın fetal reflüye bağlı geliştiği veya VUR'nün var olan intrauterin renal hasara bağlı geliştiği varsayımlarına ilişkin sorular halen cevaplanmamıştır (22). Genel olarak bakıldığında ise VUR'lü çocuklarda görülen APN'lerde gelişen renal parankimal hasarda VUR'nun önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. İdrar yolu enfeksiyonu geçirmemiş yüksek dereceli VUR'sü olan süt çocuklarında daha az skar görülürken daha düşük dereceli VUR'ye sahip olup İYE geçiren süt çocuklarında daha fazla skar görüldüğü gösterilmiştir (23). Yapılan bir çalışmada, kronik böbrek yetmezliği gelişen çocukların % 25.7'sinde VUR olduğu, bu tanıyı yaşamlarının ilk 6 ayı içerisinde ve idrar yolu enfeksiyonu geçirdikten sonra aldıkları gösterilmiştir (24). Hiçbir yakınması olmayan çocuklarda VUR sıklığına % 1-2 oranında rastlanılmakta, bunların %5-50'si ise bu çocukların kardeşleri olarak karşımıza çıkmaktadır (25). Ataei ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada VUR'sü olan çocukların kardeşlerinin, DMSA sintigrafisinde patolojik bulgulara sahip oldukları gösterilmiş ve bu bulguların konjenital displazi veya kazanılmış skar sonucu mu oluştuğunu tartışılmıştır. Yüksek dereceli reflüye sahip, İYE geçiren ve reflü nefropatisi olan çocuklarda görülen renal hasarın ne kadarının konjenital renal hasar ve/veya reflüye bağlı geliştiği, ne kadarının ise İYE sonucu geliştiğinin belirlenmesinin zor olduğu öne sürülmüştür (26).

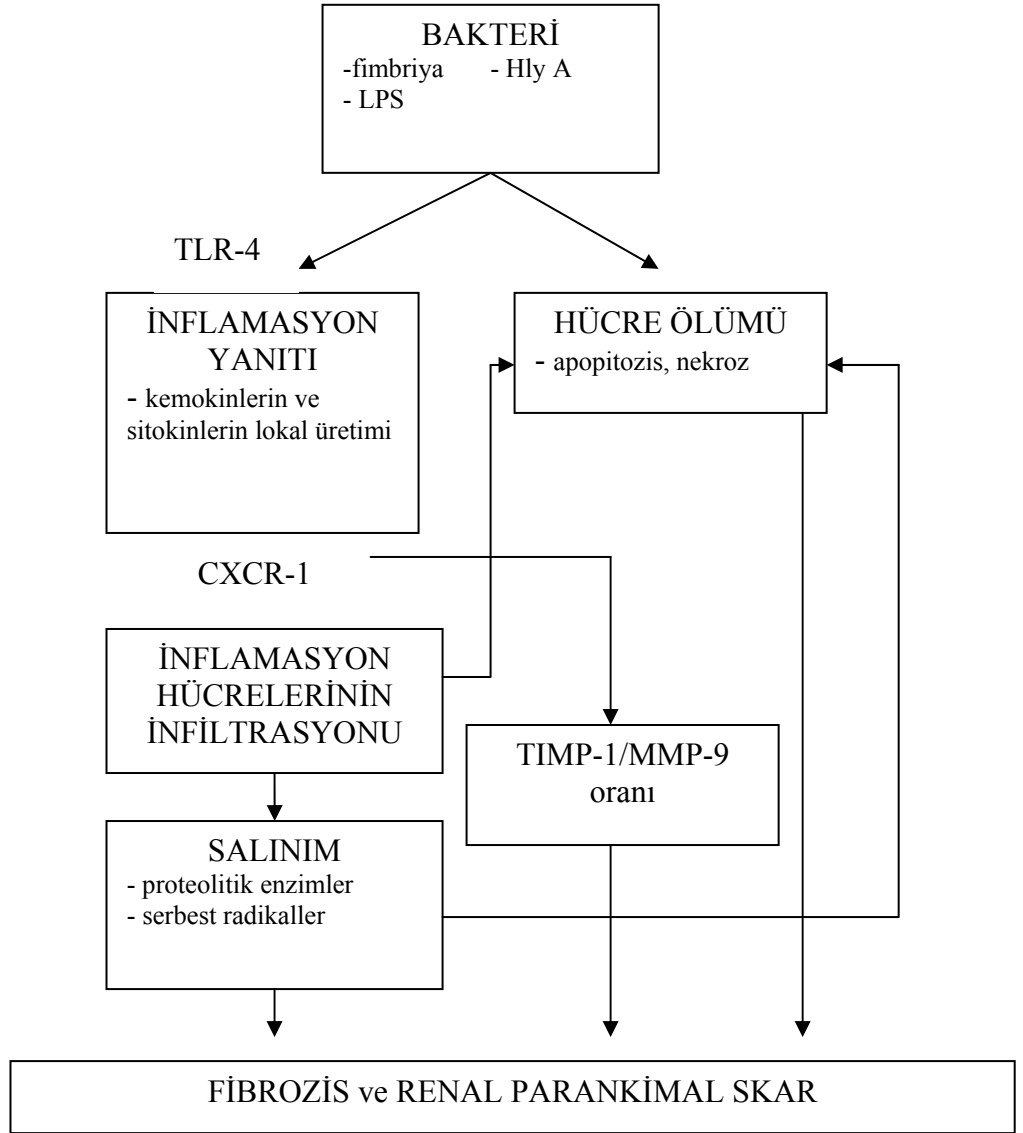
Sonuç olarak yüksek dereceli vezikoureteral reflü ve renal parankimal skar arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Renal hasarın ne kadarının konjenital döneme ait hasara bağlı, ne kadarının ise akut piyelonefrit veya vezikoureteral reflüye bağlı geliştiği ise net olarak ortaya konulmamıştır (19, 26).

2.3.2. Hasta yaşının renal parankimal skar gelişimindeki önemi:

İlk idrar yolu enfeksiyonu geçirme yaşı küçüldükçe enfeksiyon sonrası gelişen renal parankimal skar riski artmaktadır (27). Gelişmekte olan böbreğin renal hasara neden daha yatkın olduğu veya enfeksiyon sonrası gelişen hasara karşı matür böbreği koruyan faktörlerin ne olduğu açık değildir. Bu çalışmaların tersine bazı yayınlarda ise yaş ile renal skar arasında bir ilişki olmadığı da öne sürülmüştür (28). Yapılan son çalışmalarda ortaya çıkan inflamasyonun yaştan bağımsız olduğu belirtilmiştir (29). Süt çocuklarında İYE 'nin semptomlarının çok zor anlaşılır olması ve tanı konularak tedavinin başlamasına kadar geçen sürenin uzun olmasının da bunda etkili olduğu ileri sürülmektedir (30).

2.3.3. Böbrek hücrelerine üropatojenik bakterinin doğrudan etkisinin renal parankimal skar gelişimindeki önemi:

E. coli idrar yolu enfeksiyonlarının en sık rastlanılan etkenidir. Bakterinin virulans faktörleri inflamasyon yanıtının şiddetini belirlemektedir. Böbrek hücrelerinin etkilenmesi E.colinin fimbriyalar aracılığıyla hücreye yapışması, ardından da bakteriyel toksinlerin (lipopolisakkarit ve hemolizin) salınması ile olmaktadır (8, 16). E. coli toksinleri ayrıca üroepitelyum üzerine direk toksik etki etmekte ve programlanmış hücre ölümüne yol açmaktadırlar (Şekil 1) (19).

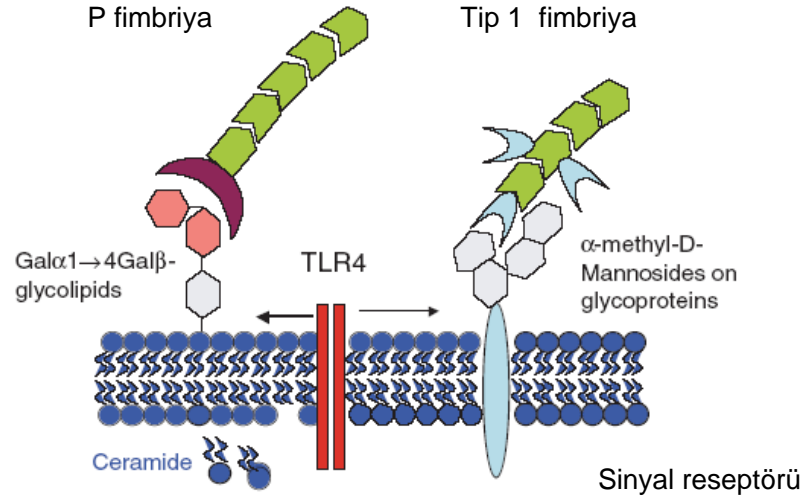


Şekil 1: Bakterilerin üroepitelyal hücrelere yapışması ve toksinlerin salınımı

Jahnukainen et al. Mechanism of renal damage owing to infection. Ped Nephrol. 2005; 20: 1043-1053 (19)

Gram negatif bakterilerin sahip oldukları fimbriya veya pililer uroepitelyuma bakterinin yapışmasında önemli role sahiptirler. Virulan E.coli suşlarının %80’de P fimbriya bulunmakta ve piyelonefrit gelişimine yol açmaktadır. Tip 1 fimbriya ise genellikle sistit gelişiminden sorumlu tutulmaktadır. Yapılan çalışmalarda fimbriyaların uroepitelyumda lokal immün cevaba yol açtıkları, Tip 1 fimbriyanın fare mesanesinde programlanmış hücre ölümünü başlattığı gösterilmiştir (31). Bunların dışında pek çok çalışmada in vitro olarak P fimbriya ve Tip 1 fimbriyanın

konaktaki immun cevabı doğrudan başlattığı ve uroepitelyal hücrelerden IL-8 salınımına yol açtığı gösterilmiştir (32, 33). Fimbriyaların üroepitel hücrelerle etkileşimi şekil 2’de gösterilmiştir. Tip1 fimbriyanın etkisi LPS bağımlıyken, P fimbriya LPS’ten bağımsız seramid ilişkili mekanizmalarla oluşmaktadır (33).



Şekil 2: Uroepitelyal hücrelerin aktivasyonu

Hedlund M, Frendeus B, Wachter C, Hang L, Fischer H, Svanborg C. Type 1 fimbriae deliver an LPS- and TLR-4-dependent activation signal to CD14 negative cells. Mol Microbiol. 2001; 39: 542-552 (33)

Lipopolisakkaritler (LPS) gram negatif bakterilerin dış zarının bir parçasıdır. Konak yanıtını aktive etmekte, nitrik oksit ve sitokin üretimine yol açmaktadır. Lipopolisakkaritlere bağlı inflamasyon yanıtı spesifik LPS bağlayıcı protein, CD14 reseptörü ve toll-like reseptör 4 (TLR-4) aracılığıyla olmaktadır. Toll-like reseptörler transmembran molekülleridir ve LPS gibi patojen spesifik elemanlara bağlı olarak yanıt oluşturmaktadırlar. Toll-like reseptörlerdeki gen polimorfizmleri sonucunda İYE ‘larına yatkınlığın değişebildiği öne sürülmüş ve TLR-4 eksik farelerde İYE’larına yatkınlığın belirgin olarak arttığı gösterilmiştir (34).

E.colinin salgıladığı bir başka toksin ise alfa hemolizindir (Hly A). Hly A’nın renal skar gelişimindeki etkisi net olarak bilinmemekle birlikte son yapılan çalışmalarda

HlyA hücre içi kalsiyum miktarının kontrolsüz olarak artmasına yol açtığı bu sayede hücre lizisi ve hücre ölümüne neden olduğu öne sürülmektedir (35).

Sonuç olarak bakteriyel virulans faktörleri, enfeksiyonun ve oluşacak renal parankimal hasarın şiddetini belirlemede önemli role sahiptirler. Bakteriyel virulans faktörleri konak immün sistemini aktive etmekte, sitokin üretimine yol açmakta ve direk sitotoksik etki göstermektedirler. İdrar yolu enfeksiyonlarına bağlı gelişen renal hasara yatkınlık belki de bu molekülleri kodlayan genlerdeki polimorfizmlere bağlı olarak değişmektedir (36).

2.3.4 Üroepitel hücrenin inflamasyon yanıtının renal parankimal skar gelişimindeki önemi:

Üroepitelyum bakterilere karşı bir bariyer oluşturmaktadır. Bu bariyer etkisi dışında bakterilere karşı protein üretmekte ve bakteriyel invazyona karşı immün sistemi aktive etmektedir. Ürettiği proteinlerden biri defensindir. Defensin asıl olarak nötrofiller tarafından üretilse de pek çok epitelyum hücresi (mesane epiteli, ureterler, toplayıcı kanal, henle kulbu) tarafından da üretilmektedir. Defensin epitelyum düzeyinde bakteri membranında voltaj bağımlı olarak delikler oluşturarak bakteriyi yok ettiği öne sürülmektedir (37).

Akut enfeksiyon sırasında üroepitelyum tarafından lokal inflamatuvar kemokinler ve sitokinlerde üretilmektedir. Enfeksiyonda IL-1 α ve TNF- α düzeylerinin arttığı, bunların IL-6 ve IL-8 üretimine yol açtığı gösterilmiştir (38). IL-1, IL-6, ve IL-8 gibi proinflamatuvar sitokinlerin artışı sonucunda da inflamatuvar hücrelerin bu bölgeye göç ederek ikincil sitokin yanıtı oluşturduğu gösterilmiştir. Bakteriüri varlığında hem erişkinlerde hem de çocuklarda, idrarda IL-1, TNF- α , IL-6 ve IL-8 düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (36, 39,40).

İnterlökinler lokal doku hasarının gelişiminde rol almaktadırlar. IL-6 proinflamatuvar etkiye sahiptir ve makrofajları aktive etmekte, akut faz reaktanlarının üretimine yol açmakta, T ve B hücrelerinin farklılaşmasında önemli rol almaktadır. Akut piyelonefritli olgularda idrarda artmış IL-6 seviyelerinin kalıcı renal skarlarla ilişkisi

gösterilmiştir (41). IL-6 aynı zamanda transforming growth faktör- β (TGF- β) üretimini de etkilemekte ve fibrogeneziste ve skar oluşumunda rol almaktadır (42).

Üroepitelyum tarafından üretilen bir başka önemli kemokin IL-8'dir. Böbreğe nötrofillerin ve lenfositlerin göçünü sağlamaktadır (41). Ateşli İYE geçiren çocuklarda idrarda IL-8 düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Buradan yola çıkarak idrarda IL-8 düzeyleri daha yüksek olan APN'li çocukların semptomlarının daha ağır olduğu ve bunun erken tanıyı kolaylaştırdığı ve bunun sonucunda skar gelişim riskinin azaldığı öne sürülmüştür (19).

2.3.5 Nötrofillerin renal parankimal skar gelişimindeki önemi:

Nötrofillerin enfekte dokuya göçü konak savunmasının önemli bir basamağıdır. Nötrofillerin aktivasyonu bakterinin giderilmesinde gereklidir ancak bu aktivasyon sonucu lokal doku hasarı da gelişebilmektedir. İdrarda nötrofillerin bulunması yani piyüri, kemotaksis, endotelial hücelere nötrofillerin yapışması ve epitelyum hücrelerinden geçiş ile olmaktadır. Interlökin-8 bu olayı başlatmakta önemli rol almaktadır. İnflamatuvar hücrelerin enfeksiyon bölgesine ulaşması kemotaktik gradiente bağlı olmaktadır. Interlökin-8 antikorları ile tedavi sonrasında idrara kemotaksisin %50 oranında azaldığı, aynı zamanda bakteri olmaksızın sadece rekombinant IL-8 verildiği durumlarda da idrar yolu enfeksiyonuna benzer inflamatuvar cevabın oluştuğu gösterilmiştir (43). Kemotaksis nötrofiller, T helper tip 1, bazofiller, eozinofiller, endotelial hücreler, dendritik hücreler, mast hücreleri ve üroepitelyum üzerinde bulunan IL-8 reseptörleri (CXCR1 ve CXCR2) ile olmaktadır. Nötrofillerdeki CXCR reseptörünün uyarılması sonucunda enzimler salınmakta, ekzositoz, hücre içi kalsiyum mobilizasyonu ve fosfolipaz aktivasyonu görülmektedir. CXCR1 reseptörünün nötrofillerin üroepitelyal bariyeri geçmesinde yardımcı olduğu ve anti-CXCR1 ve anti IL-8 verildiğinde bu olayın bloke edildiği fakat CXCR2 'nin bloke edilmesi ile aynı etkinin olmadığı gösterilmiştir (44).

İnflamatuvar hücrelerin kandan enfekte dokuya çıkışında adezyon molekülleri olan ICAM-1(hücre içi adezyon molekülü) ve E-selektinin rol aldığı bilinmektedir. Skar oluşumundaki etkileri ise açık değildir. Yapılan çalışmalarda APN'li çocukların hem

plazma hem de idrar örneklerinde ICAM-1 ve E-selektin düzeylerinin artmış olduğu gösterilmiştir, fakat DMSA bulguları ile korelasyon bulunamamıştır. (45).

2.3.6 Reperfüzyon ve serbest oksijen radikallerinin renal parankimal skar gelişimindeki önemi:

Bakterilerin invazyonu sonrasında kemokinlerin, sitokinlerin üretimi ve inflamatuvar hücrelerin göçü gözlenmektedir. Bu olaylar sırasında gelişen doku hasarının bir kısmından bakteriyel toksinlerin salınımı ve buna bağlı gelişen endotel hasarı, kapiller obstrüksiyon ve hipoksi sorumlu tutulmaktadır (46). Hipoperfüzyon ve doku hipoksisini reperfüzyon dönemi izlemekte bu sırada renal tubuler hücrelerden serbest radikaller, süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri ortama salınmaktadır (47). Bu toksik maddeler hücre zarında hasara yol açmakta ve hücre ölümüne sebep olmaktadır. Enfeksiyon sonrası görülen renal parankimal hasarda renal iskemi ve reperfüzyon hasarının önemli bir mekanizma olduğu belirtilmektedir.

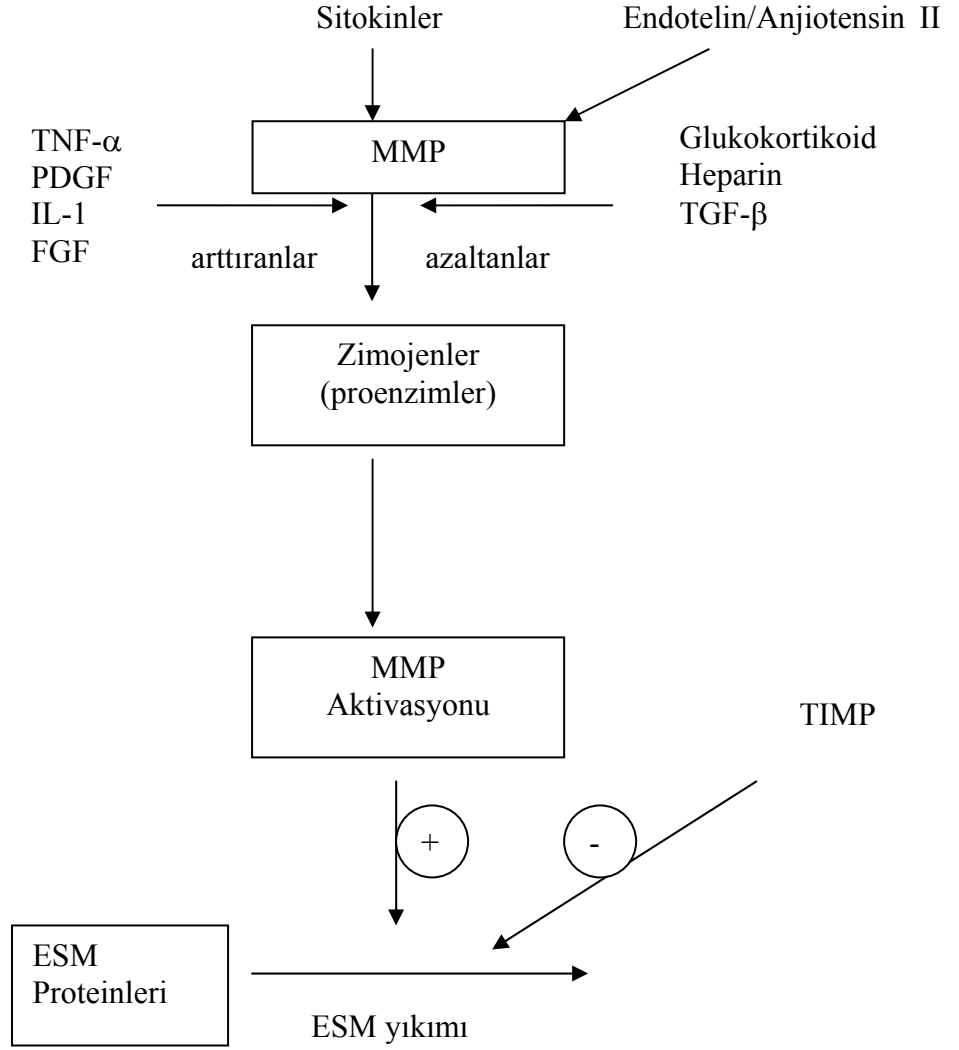
Sonuç olarak pek çok deneysel çalışmada oksijen radikallerinin akut inflamatuvar cevapta oluşan renal hasarda anahtar rol oynadığı gösterilmiştir (46,47).

2.3.7 Fibrozis ve renal parankimal skar gelişimindeki önemi:

İnterstisiyel fibrozis pek çok ilerleyici böbrek hastalığının ortak son noktasıdır. Klinik önemine rağmen halen böbreklerde gelişen skarın mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Genel olarak renal fibrogenezisin kemokinlerin ve büyüme faktörlerinin salınımına bağlı ortaya çıktığı düşünülmektedir. Bu maddelerin konsantrasyonları enfekte bölgeye göç eden lökositlere ve interstisiyel fibroblastlardaki artışa bağlıdır. Kemokinlerin ve büyüme faktörlerinin salınımından sonra matriks yapımında artış, ardından da matriks degradasyonunda azalma görülmekte, bu da ekstraselüler matriks (ESM) içeriklerinin değişmesi ile sonuçlanmaktadır. Bu ekstraselüler matriks içeriklerinin değişmesi de skar patogenezinde tek mekanizma değildir. Ekstraselüler matriks, organların dokularının yapısında ve homeostazisinde anahtar rol oynamaktadır. Pek çok organda ESM'in proteinöz komponentinin ana yapısını kollajenler oluşturmaktadır. Kollajen asıl olarak farklı stromal hücrelerden özellikle de fibroblastlardan salgılanmaktadır.

Ekstraselüler matriksin yapısında farklı proteinler yer almaktadır. Bazal membran gibi özel ESM yapıları laminin, entactin, kollajen IV, farklı büyüme faktörleri ve proteazlar gibi farklı proteinleri içermektedir (48). Ekstraselüler matriks yapısında yer alan ikinci grup moleküller ise proteoglikanlardır. Kondrotin, heparan ve keratan sülfat bu grupta yer almaktadır. Hücre yapışmasına yardımcı olmak ve büyüme faktörlerine bağlanmayı sağlamak asıl iki fonksiyonunu oluşturmaktadır. Ekstraselüler matriks ayrıca glikozaminoglikan da içermektedir. Bu gruptaki asıl üye ise hyaluronandır. Hyaluronan fibroblastlar tarafından sentez edilmekte ve tüm organların ESM yapısında yer almaktadır. Hyaluronan pek çok hücre fonksiyonunda (yapışma, hücre içi sinyal iletimi gibi) rol almaktadır (49). Ekstraselüler matriks konaktaki hücresele uyarılara bağılı olarak değişikliklere uğramaktadır. Normal gelişim sırasında, inflamasyonda, doku yaralanmasında ve kanser gelişiminde ESM yapısında ve kompozisyonunda değişiklikler meydana gelmektedir. Günümüzde geçerli olan hipotez normal yeniden yapılanmanın ve doku iyileşmesinin ESM protein sentezi ve yıkımı arasındaki dengeye bağılı olduğu şeklindedir (50). İnflamasyon sırasında ESM'te yıkıma yol açan pek çok proteaz bulunmakta, fakat bunlar içinde yer alan metalloproteinazlar en önemlilerini oluşturmaktadır.

Matriks metalloproteinazlar çinko içeren geniş bir enzim ailesidir. İnterstisiyel kollajenazlar (MMP-1, -8, -13, 18), stromelizinler (MMP-3,-10), gelatinazlar (MMP-2, -9), matrilizinler (MMP-7, -11, -26), makrofaj elastazı (MMP-12) ve membran tipi MMP'lar (MMP-14, -17, -24, -25) olmak üzere çeşitli gruplara ayrılmışlardır (51). MMP'lar embriyonik gelişim, angiogenesis, inflamasyon, yara iyileşmesi ve fibrozis gibi pek çok patofizyolojik olayda önemli rol almaktadırlar. MMP'lar sadece matriks yıkımında değil, sitokinler, kemokinler ve büyüme faktörleri gibi matriks dışı elemanlarında proteolitik aktivasyonunda ve yıkımında rol almaktadırlar (52). MMP'ların regülasyonu gen transkripsiyonu, glikolizasyon, hücre içi sinyalizasyon ve salgılanma, latent formların aktivasyonu, metalloproteinazların spesifik doku inhibitörü (TIMP) ile baskılanması gibi karmaşık mekanizmalarla olmaktadır (Şekil 3) (51).

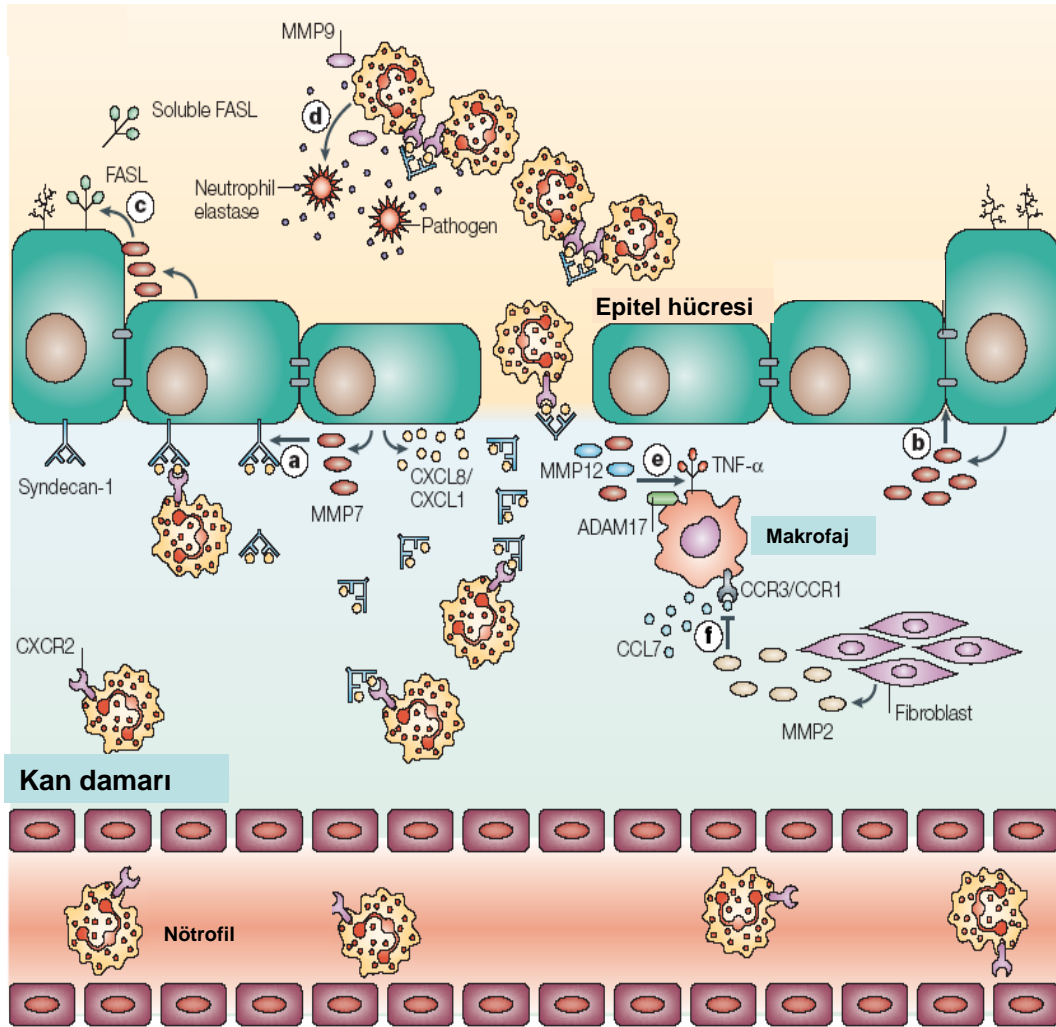


Şekil 3: Matriks metalloproteinazların düzenlenmesi

Ronco et al. Matrix Metalloproteinases in kidney disease progression and repair: A case of flipping the coin. *Semin Nephrol.* 2007; 27: 352-362 (51).

Gelatinazlar içinde yer alan MMP-9 ve MMP-2 parankimal organlardaki inflamasyon sırasında önemli rol oynamaktadır. Bu metalloproteinazlar asıl olarak denatüre kollajenleri ve bazal membran komponentlerini (özellikle Tip IV kolajen) yıkıma uğratmaktadır. MMP-9 farklı uyarılar sonucunda nötrofiller ve makrofajlardan salınmaktadır (53). Bu hücreler dışında sitokinler ve büyüme faktörleri ile uyarılma sonrasında glomerüler epitelyum hücreleri, mesangial hücreler, tübül hücreleri ve fibroblastlar tarafından da üretilmektedirler (54). Matriks metalloproteinazların artmış üretimi veya aktivasyonu sonucunda dokularda

degradasyonda artış ve bu bölgelere kolajenin yerleşmesi görülmektedir. Bazal membranın asıl yapısını oluşturan Tip IV kolajen dağılımındaki bu dengesizlik ise renal skar gelişimine neden olmaktadır. Bunun yanında MMP üretimindeki veya aktivasyonundaki azalma da kollajen degradasyonunda azalmaya yol açmaktadır. Sonuçta MMP'lar skar gelişiminde ve doku kontraksiyonunda rol almaktadırlar. Matriks metalloproteinazların inflamasyon sırasında oynadıkları roller Şekil 4'te gösterilmiştir (55).



Şekil 4: Matriks metalloproteinazların inflamasyondaki yeri

Parks et al. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation and immunity. Nat Rev Immunol. 2004; 4: 617-629 (55).

Matriks metalloproteinazların aktivasyonunu kontrol eden en önemli mekanizma metalloproteinazların doku inhibitörleridir. Bu grupta TIMP-1, -2, -3, -4 olmak üzere dört molekül bulunmaktadır. TIMP-1, MMP'ların asıl inhibitörüdür. TIMP-1 aktivasyonu ile fibrinolizis azalmakta ve bunun sonucunda dokuya kolejen göçü olmaktadır. TIMP-1 üretimi IL-1 β ve TNF- α ile azaltılmaktadır (56). MMP-9 ile ilişkili olarak TIMP-1 konsantrasyonlarındaki artışın akut piyelonefrit sonrası gelişen skar da rol aldığı öne sürülmüştür. Yapılan bir çalışmada, idrarda MMP-9/ TIMP-1 oranında azalma varsa bu durumda akut piyelonefrit sonrasında DMSA sintigrafisinde daha ciddi değişikliklere rastlanıldığı gösterilmiştir (3). Yapılan başka bir çalışmada, TIMP-1 ekspresyonunun hidronefrotik sıçan böbreklerinde arttığı ve TIMP-1 konsantrasyonunun bu böbreklerdeki tübülointerstisiyel skar gelişimi ile korelasyon gösterdiği ileri sürülmüştür (57).

Bu nedenle APN sırasında salgılanan pek çok sitokin, TIMP-1 ve MMP-9'un böbreklerde ekspresyonunu arttırarak skar oluşumuna yol açabileceği öne sürülmektedir (19) .

Yapılan çalışmalarda APN dışındaki diğer böbrek hastalıklarının patogenezinde de MMP-9 ve TIMP-1'in görev aldığı gösterilmiştir (4, 58, 59). Akiyama ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada Ig A nefropatisi, lupus nefriti ve membranöz nefritte serum MMP-1, -2, -3, TIMP-1, -2 ve Tip 4 kollajen düzeyleri çalışılmış, mesangioproliferatif nefrit olan Ig A nefriti ve lupus nefritinde MMP-3 ve TIMP-2'nin arttığı, membranoproliferatif glomerulonefritte ise tip 4 kollajen, MMP-2 ve TIMP-1 düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Elde edilen bu veriler sonucunda glomerulonefriti olan hastaların ESM metabolizmasında dengesizlik oluştuğu ve buna bağlı olarak glomerulonefrit tablosunun ortaya çıktığı öne sürülmüştür(4). Endo ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada son dönem böbrek yetmezliğine ilerleyen farklı glomeruler hastalıkların, mesangial matrikse tip 4 kolajen, proteoglikan ve lamininin akımı ve glomeruler bazal membranda incelme sonucu oluştuğu belirtilmiştir. Hem mesangial matriks hem de glomeruler bazal membran metabolizmasının sentez ve yıkım ile sağlandığı belirtilmiştir. Bu nedenle farklı glomerüler hastalığa sahip olan hastaların serumlarında MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1

düzeleleri çalışılmış ve MMP-2 düzelelerinin bu hastalarda yüksek olduğu, MMP-9 düzelelerinin ise farklılık göstermediği anlaşılmıştır. Bu sonuçlarla MMP-2'nin glomerüler bazal membran yıkımında önemli rol aldığı, MMP-9'un ise mesangial matrikste yıkıma yol açtığı ileri sürülmüştür (58). Nakamura ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise polikistik böbrek hastalığı olan hastaların serumlarında MMP-1, TIMP-1 ve tip 4 kollajen düzeleleri çalışılmış, MMP-1, TIMP-1 ve tip 4 kolajen serum düzelelerinin polikistik böbrek hastalığına sahip olanlarda kontrol grubuna göre belirgin yüksek olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak ESM'te meydana gelen sentez ve yıkım olayları arasındaki dengesizliğin buna yol açtığı öne sürülmüştür (59).

Skar gelişiminde ayrıca TNF- α , IL-1 β ve TGF- β 'nin etkileri de bilinmektedir. TNF- α , IL-1 β ve TGF- β üretimini uyarmakta böylece fibrozis ve proteolizis arasındaki dengeyi düzenleyerek tubuler bazal membran , ekstraselüler matriks etkilenimine yol açmaktadır. TGF- β fibrozise yol açan öncü bir sitokindir ve fibrogenesis aktivasyonuna sebep olmaktadır. Fazla üretimi sonrasında da glomeruloskleroz ve ekstraselüler matrikste aşırı üretim görülmektedir. TGF- β 'nin artışı kollajen, fibronektin, proteoglikan ve hücre yüzey integrinlerinin sentezinde artmaya, proteinazların üretiminin baskılanmasına ve proteinazların inhibitörlerinin üretiminde artışa rastlanmaktadır. Cotton ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada TGF- β genindeki polimorfizmlere bağlı olarak da renal fibrozise ve skar gelişimine yatkınlıktaki farklılıklar açıklanmaya çalışılmaktadır (42).

Hyaluronik asit (hyaluronan) ESM'in önemli elemanlarından biridir. Yüksek moleköl ağırlıklı bir polisakkarittir ve yumuşak bağ dokusunda yer almaktadır. Fibroblastlar tarafından sentez edilmektedir. Hyaluronan özellikle hızlı doku büyümesi ve onarımında artmaktadır. Pek çok farklı formda karşımıza çıkmaktadır. Kanda ve lenfatik sistemde serbest olarak dolaşabilmekte, gevşek olarak ESM'e tutunmakta ve spesifik reseptörleri ile hücelere bağlanabilmektedir (60). Normal koşullarda düşük konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Yara iyileşmesinin erken evrelerinde ve hızlı hücre döngüsünün olduğu dönemlerde kan düzeyinde artış ortaya çıkmaktadır. Ayrıca kan kaybı, şok, sepsis, yaygın travma, cerrahi girişimler ve

yanık sonrasında da kan düzeyinde artış görülmektedir (61, 62). Hyaluronik asit (hyaluronan) yapısına çok fazla miktarda su çekebilme özelliğine sahiptir. Stres bağımlı bir moleküldür, IL-1 ve TNF- α gibi sitokinlere yanıt olarak hızlıca artmaktadır (63). Hyaluronanın artışı dolaşım şokundan konağı korumaktadır. Hyaluronik asit akut karaciğer hasarı gibi ciddi yaralanmalar sonrasında hızlıca yaşamsal mekanizmaları aktive ederek organizmayı korumaktadır (5). Klinikte genellikle hyaluronan düzeyleri karaciğer fonksiyonlarını değerlendirmek için kullanılmaktadır. Hyaluronan artışı aynı zamanda karaciğer transplantasyonu sonrasında erken rejeksiyonun işareti olarak kullanılmaktadır (64).

2.3.8 Enfeksiyonlara karşı oluşan yanıtta genetik farklılıkların renal parankimal skar gelişimindeki önemi:

Üroepitelyumun bakterilere karşı oluşturduğu inflamatuvar yanıtta gen polimorfizminin etkili olduğu ileri sürülmektedir. TLR-4 'deki polimorfizm sonucunda LPS'lere karşı yanıtın azaldığı ve bakterinin üriner sistemden temizlenmesinin geciktiği farelerde gösterilmiştir (34). Sitokin genlerindeki polimorfizmin de APN sıklığı ve şiddeti ile ilişkisi olduğu çalışmalarla ortaya koyulmuştur. TGF- β genindeki değişik polimorfizmler sonucunda enfeksiyon sonrası gelişen renal parankimal skarın farklı olduğu gösterilmiştir (42).

Renin-anjiotensin gen polimorfizminin, diabetik nefropatili ve Ig A nefropatili hastalarda glomeruloskleroz gelişiminin bir belirleyicisi olduğu gösterilmiştir. Anjiotensin II konsantrasyonunun artması sonucunda glomerul içi basınç artmakta, perfüzyon bozulmakta ve sonuçta TGF- β ' ya bağlı olarak hücre proliferasyonu ortaya çıkmaktadır. Anjiotensin konverting enzim gen polimorfizmi enfeksiyon sonrası renal skar gelişen çocuklarda da çalışılmış ve herhangi bir prognostik önemi gösterilememiştir (65,66). Yaş, VUR olması ve enfeksiyon sıklığından bağımsız olarak bazı hastaların enfeksiyon sonrası gelişen renal parankimal hasara daha yatkın olması bu polimorfizmlerin önemli olduğunu ortaya koymaktadır. Gen polimorfizmleri ile renal parankimal hasara yatkınlık arasındaki ilişkiler üzerinde çalışmalar devam etmektedir (19) .

2.3.9 APN sırasında inflamatuvar yanıtta ve renal parankimal skar gelişiminde tedavinin önemi:

İdrar yolu enfeksiyonu ve renal skarla ilgili çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Buna rağmen skar gelişimini tam olarak engelleyebilen bir yöntem bulunamamıştır. Günümüzde enfeksiyonun erken tedavisinin ve VUR'nün erken tanı- tedavisinin renal skar gelişimini engellemesindeki önemi üzerinde durulmaktadır (9).

2.4 İdrar Yolu Enfeksiyonlarında Tanı

İdrar yolu enfeksiyonu tanısı detaylı bir öykü, fizik muayene, tam idrar tetkiki, idrar kültürü, akut faz reaktanları ve bazı radyolojik görüntüleme yöntemleri ile konulmaktadır.

2.4.1 Öykü ve fizik muayene:

İdrar yolu enfeksiyonu düşünülen çocuklarda ayrıntılı bir öykü alınıp fizik muayene yapılmalıdır. Enfeksiyon sırasında karşımıza çıkan klinik bulgular yaşa, enfeksiyonun etkilediği üriner sistem bölgesine ve hastalığın şiddetine göre değişmektedir.

Yenidoğan döneminde bulgular hastalığa özgü değildir. Ateş, irritabilite, letarji, ağırlık artımında azalma, ishal, sarılık, emmeme gibi herhangi bir başka enfeksiyonda görülebilen bulgularla İYE karşımıza çıkabilmektedir.

Süt çocuklarında ateş, ağırlık artımında azalma, kusma, ishal, kabızlık, huzursuzluk gibi yenidoğan dönemine benzer yakınmalar görülmektedir.

Büyük çocuklarda ise ateş, kusma, bulantı, karın ağrısı, böğür ağrısı gibi üst üriner sistem enfeksiyonu belirtileri, sık idrar yapma, idrar yaparken yanma, idrar kaçırma gibi alt üriner sistem enfeksiyonu belirtileri ile hastalar gelebilirler.

Hastalarda fizik muayene bulguları genellikle İYE özgü değildir. Kostovertebral duyarlılık üst üriner sistem enfeksiyonu tanısında önemli bir bulgudur.

2.4.2 Laboratuvar incelemeleri:

1. İdrar incelemesi: İdrar incelemesi idrarın direk bakısı ve kimyasal inceleme olarak sınıflandırılmıştır. Direk bakıda santrifüj edilmiş idrarda her alanda 5'ten fazla lökosit bulunması ve santrifüj edilmemiş idrarda gram boyamada bakteri görülmesi ile İYE tanısı desteklenmektedir (9). Kimyasal incelemede ise lökosit esteraz ve nitrit varlığı değerlendirilmektedir. Lökosit esteraz pozitifliği, direk bakıda lökosit varlığını desteklemektedir. Nitrit pozitifliği, gram(-) bakterilerin nitratı nitrite çevirme yetenekleri sonucunda görülmektedir. Nitrit pozitifliği tanıyı desteklemekle birlikte sık idrara çıkma nedeniyle mesanede bu reaksiyon olmayabilir ve yanlış negatif sonuç bulunabilir.
2. İdrar kültürü: İdrar yolu enfeksiyonlarının kesin tanısı idrar kültüründe tek tip bakterinin üremesi ile konulmaktadır. Torba veya temiz orta akım idrarında mililitrede 100.000 koloni, mesaneye steril sonda yerleştirilerek alınan idrar örneğinde mililitrede en az 10.000 koloni, suprapubik girişim ile alınan idrarda ise herhangi bir sayıda bakteri üremesi idrar yolu enfeksiyonu tanısını koydurmaktadır. Bazen idrar yolu enfeksiyonu olmasına rağmen kültürde üreme olmayabilmektedir. Bu durum bol sıvı alınması, antibiyotik kullanımı, sık işeme ve perine bölgesinin antiseptikle silinmesi sonucu görülmektedir. Bu nedenle tanı tek başına kültürle değil, klinik bulgular ve idrar incelemesinin birlikte değerlendirilmesi ile olmalıdır.
3. Diğer laboratuvar incelemeleri: Akut piyelonefrit düşünülen hastalarda idrar incelemesi dışında tam kan sayımı, eritrosit sedimentasyon hızı, C reaktif protein düzeyleri değerlendirilmektedir. Bunların artışı akut piyelonefrit lehine yorumlanmaktadır. Bu laboratuvar bulgularından eritrosit sedimentasyon hızı ve C reaktif protein ile skar gelişimi arasında bağlantı olduğu bulunmuştur. Özellikle de C reaktif protein ile oldukça yüksek bir ilişki gösterilmiştir (67).

Son yıllarda akut piyelonefritte ortaya çıkan inflamasyonu gösteren ve gelişebilecek renal parankimal skarlarla korelasyonu iyi olan belirteçler üzerinde çalışılmaktadır. Bunlardan biri de prokalsitonindir. Prokalsitoninin bakteriyel invazyonun şiddeti ile ilişkili olduğu ve renal parankimal skar gelişimi ile bağlantılı olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (68, 69).

2.4.3 Görüntüleme Yöntemleri

İdrar yolu enfeksiyonlarında kullanılan görüntüleme yöntemlerinin amacı, akut piyelonefrit tanısını koyabilmek, akut piyelonefrite yatkınlık yaratabilecek anatomik bozuklukları ortaya çıkarmak ve renal parankimal hasarın gösterilmesidir (70).

1. Teknesyum-99m Dimerkaptosüksinik Asit (DMSA) Sintigrafisi: Akut piyelonefrit geçiren çocuklarda ilk bir hafta içinde çekilen DMSA sintigrafisinin erken dönemde renal parankimdeki enfeksiyonu göstermede en duyarlı test olduğu ve altın standart olarak kabul edildiği bilinmektedir (71,72,73,74). Nükleer tıp merkezlerinde Teknesyum-99m ile işaretli dimerkaptosüksinik asidin damar içine verilmesinden 4 saat sonra alınan görüntülerle elde edilmektedir. Böbrek kenarlarının düzenli olması, her iki böbreğin şeklinin ve boyutunun normal olması, parankimal tutulumun homojen olması normal DMSA bulgularıdır. Hafif şişmiş veya normal kontürlü böbrekler, tek veya çok sayıdaki lokal veya yaygın olarak parankim aktivitesinde azalma enfeksiyonu göstermektedir. Yaygın veya keskin kenar çentiklenmesi, hacim kaybına yol açan her türlü şekil bozukluğu, aktivitenin belirgin azalması renal parankimal skar bulgularıdır. APN tanısı alan çocukların erken dönemde yapılan DMSA sintigrafilerinde % 38-96 oranında renal parankimde enfeksiyon bulgusu görülmektedir (75,76). Bu görüntüleme yönteminin duyarlılığı % 100 olmadığı için her zaman APN'yi dışlamak mümkün değildir. Bunun yanı sıra hastaların görüntüleme sırasında orta derecede (1mSV'lik) radyasyona maruz kalması, işlem sırasında damar yolu açılmasının gerekmesi, maliyetinin yüksek olması ve asıl önemlisi akut renal hasar ile eski skarı birbirinden ayırt edememesi önemli dezavantajlarından (77). Çocuklarda APN sonrası gelişebilecek kalıcı hasar, uzun dönemde ciddi komplikasyonlara yol açması nedeniyle mutlaka tanımlanmalıdır. DMSA sintigrafisi ile APN sonrası ileri dönemde böbrek hasarını saptamak için enfeksiyondan en erken 6 ay sonra çekilmesi önerilmektedir (78).
2. Ultrasonografik İnceleme: Amerikan Pediatri Akademisi ateşli İYE geçiren 2 yaş altı çocukların hepsinin USG ile değerlendirilmesini önermektedir (9). USG, APN'ye bağlı gelişen renal apse, perinefritik apse gibi komplikasyonların saptanmasında ilk görüntüleme yöntemi olarak önerilmektedir. USG' nin APN

tanısındaki yeri halen tartışmalıdır. Yapılan bir çalışmada 2 yaşından küçük APN geçiren 309 çocukta USG'nin tanıya ek bir destek sağlamadığı gösterilmiştir (79). Kolay uygulanabilir olması, iyonize radyasyon içermemesi nedeniyle avantajlı bir görüntüleme yöntemidir. Bu görüntüleme yöntemi ile böbreklerin büyüklükleri, yeri, yapısal defektleri, pozisyonel anormallikleri ve hidronefroz gösterilebilmektedir.

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

2.5 İdrar Yolu Enfeksiyonlarında Tedavi

İdrar yolu enfeksiyonlarında uygulanan tedavinin amacı, akut enfeksiyonun engellenmesi, hastanın yakınmaların giderilmesi ve oluşabilecek renal parankimal hasarın önlenmesidir.

Amerikan Pediatri Akademisi toksik görünen, dehidrate veya ağızdan sıvı gıda alımı yetersiz olan çocukların parenteral tedavi almasını önermektedir. Sağlıklı görülen, toksik olmayan, ağızdan sıvı alımı iyi olan ve basit İYE geçiren hastalar ayaktan,

günlük kontrollere gelerek ağızdan antibiyotik tedavisi ile izlenebilmektedirler (7,9). Klinik ve laboratuvar olarak APN tanısı düşünülen 2 aydan küçük bebekler, genel durumu iyi olmayan hasta görünümlüleri, ağızdan yeterli sıvı alamayan hastalar idrar kültürleri alındıktan sonra hastaneye yatırılmalıdırlar. Bu hasta grubuna intravenöz sıvı, parenteral geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi başlanmalıdır. Parenteral olarak kullanılabilir ilaçlar; seftriakson (75 mg/kg/g), sefotaksim (150 mg/kg/g), seftazidim (150 mg/kg/g), sefazolin (50 mg/kg/g), gentamisin (7.5 mg/kg/g)dir (9). Seçilecek antibiyotik tedavisi hastanın yaşına, enfeksiyonun yerleşim yerine ve etken olan bakterinin antibiyotik duyarlılığına göre yapılmalıdır (9, 80). İdrar yolu enfeksiyonu tedavisi için ağızdan kullanılabilir ilaçlar; amoksisilin(20-40 mg/kg/g), trimetoprim-sulfometoksazol (6-12 mg/kg/g) ve sefalosporinler (sefixim 8mg/kg/g, sefprozil 30 mg/kg/g, sefaleksim 50-100mg/kg/g) dir (9).

Klinik ve laboratuvar olarak APN tanısı düşünülen hastalara kültür sonucu çıkmadan etken mikroorganizmaları ve direnç durumu göz önüne alınarak hemen uygun antibiyotik tedavisi ve 2500 cc/m² intravenöz sıvı başlanmalıdır.

Yenidoğan döneminde İYE ürosepsis şeklinde olduğu için tedavi sepsis etkenlerine yöneliktir. Tercih edilecek antibiyotikler ampicilin (100 mg/kg/g) ve üçüncü kuşak sefalosporinler veya gentamisin (3.5-5mg/kg/g) olmalıdır(9). Antibiyotik tedavisi ile 24-48 saat içinde klinik yanıtın alınması gerekmektedir. Klinik yanıtın yetersiz olması durumunda idrar kültürünün antibiyogramı değerlendirilmeli ve mikroorganizmanın duyarlı olduğu antibiyotiğe geçilmelidir. Tedaviye ortalama 10-14 gün devam edilmelidir.

Amerikan Pediatri Akademisi, idrar yolu enfeksiyonu geçiren hastaların ilk aylarda tekrar enfeksiyon geçirme riskinin olması ve tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonlarına bağlı olarak renal skar gelişmesi nedeniyle bu hastalara koruyucu antibiyotik tedavisi uygulaması önermektedir. Koruyucu tedavi olarak trimetoprim- sulfametoksazol (1-2 mg/kg/g), nitrofurantoin (1-2 mg/kg/g), siprofloksasin (1mg/kg/g), sefadroksil (3-5mg/kg/g) kullanılabilir (9).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Prospektif olarak planlanan bu çalışmada akut piyelonefrit tanısı ile Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Nefroloji Bilim Dalı tarafından yatırılarak izlenen hastalar değerlendirilmiştir.

3.1 Hasta ve Kontrol Grubunun Seçimi

Ocak 2005- Ocak 2007 tarihleri arasında ateş, karın ağrısı, böğür ağrısı gibi yakınmalarla gelen, başka bir enfeksiyon bulgusu olmayan ve akut faz reaktanları yüksek, idrar kültüründe anlamlı üremesi olan ve ilk kez APN tanısı alan hastalar çalışmaya alındı.

Çalışmanın kontrol grubunu ise Ocak 2005-Ocak 2007 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Sosyal Pediatri Bilim Dalı ve Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Genel Polikliniğine başvuran benzer yaş grubundan, herhangi bir sağlık problemi olmayan, başvuru bölüm tarafından kontrol amaçlı kan alınması gereken sağlıklı çocuklar oluşturdu.

Çalışmaya daha önce APN geçirmiş olan çocuklar, vezikoureteral reflü, obstrüktif üropati, nörojenik mesane, genitoüriner sistemde malformasyonu olan ve APN ön tanısı ile yatırılmasına karşın idrar kültüründe üreme olmayan çocuklar dahil edilmedi.

Çalışmaya yaşları 4.5 ay ile 96 ay arasında değişen 23 hasta alındı. Öyküde 38⁰C'nin üzerinde ateş varlığı, fizik muayenede ateşi açıklayacak diğer enfeksiyon bulgularının dışlanması, kostovertabral ağrı ve/veya duyarlılık, yapılan laboratuvar incelemelerinde idrarda lökosit (her alanda > 5 lökosit) ve akut faz reaktanlarından beyaz küre, eritrosit çökme hızı ve C reaktif proteinde yükseklik olması ile akut piyelonefrit ön tanısı konularak tedavi başlandı. Akut piyelonefritin kesin tanısı idrar kültüründe üreme olması ile kanıtlandı.

Akut piyelonefrit tanısı konulan hastaların adı-soyadı, yaşı, cinsiyeti, öyküsü, altta yatan böbrek hastalığı olup olmadığı sorgulandı. Ayrıntılı fizik muayene ile patolojik bulgular, başka bir enfeksiyon odağının olup olmadığı, erkeklerde fimozis, kızlarda ise labiyal yapışıklık varlığı kaydedildi.

Çalışmaya dahil edilen her hasta için bir izlem formu dolduruldu (Ek 1).

Bu çalışma için Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul onayı alındı. Çalışmaya dahil edilen hastaların ve kontrol grubunu oluşturan çocukların ailelerinden yazılı izin belgesi alındı.

3.2 Akut Piyelonefrit Tanısı Konulurken Dikkate Alınan Veriler

3.2.1. Akut faz reaktanlarının değerlendirilmesi:

Akut piyelonefrit tanısı alan her hastanın tam kan sayımı, eritrosit çökme hızı , C reaktif protein düzeyi kaydedildi. Lökositoz , eritrosit çökme hızı ve C reaktif proteinde artış olması APN lehine değerlendirildi. Bu laboratuvar incelemelerinden tam kan sayımı, eritrosit çökme hızı AÜTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hematoloji Laboratuvarı'nda, C reaktif protein ise AÜTF Cebeci Merkez laboratuvarı Biyokimya bölümünde yapıldı.

3.2.2. İdrar incelemesi ve idrar kültürünün değerlendirilmesi:

İdrar incelemesi bebeklerde genital bölge temizlendikten sonra torba yöntemi ile, tuvalet eğitimi almış çocuklarda ise orta akım idrarı alınarak yapıldı. Kuşku durumlarda idrar sondası konularak idrar muayenesi ve kültürü tekrarlanıldı.

İdrar örneği direk bakı ile ve kimyasal olarak incelendi. Direk bakı 5000 devir/dakika olacak şekilde ayarlanmış cihaz ile 3 dakika santrifüj edilerek elde edilen çökeltinin doktor tarafından 40'luk büyütme ile bakılmasıyla değerlendirildi. Her sahada 5-10'dan fazla lökosit olması veya lökosit kümelerinin görülmesi anlamlı kabul edildi. Kimyasal incelemede ise özellikle lökosit esteraz ve nitrit pozitifliği anlamlı kabul edildi.

Tüm idrar kültürleri AÜTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda değerlendirildi. Steril kapaklı plastik kaplara alınan

idrar örnekleri 0.001 ml çaplı steril ticari olarak satılan özeler ile bir öze dolusu alınarak kanlı agar ve Eosin-Metilen-Blue (EMB) agara ekildi. Onaltı- yirmidört saat 35°C'lik etüvde bekletildikten sonra 100.000 kol/ml ve üzeri üreme olanlar pozitif kabul edildi. Sonrasında üreme olan kültürlerden Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile gram(-) ve gram(+) etkenler için ayrı ayrı antibiyotik duyarlılıkları belirlendi. Tip tayini için, gram (-) basil üremesi ise Triple sugar iron ile biyokimyasal tanımlama yapıldı, gram(+) üreme ise katalaz bakılarak stafilokok/streptokok ayrımı yapıldı. Üreme olan idrar kültürleri en geç 48 saat içinde tip tayini ve antibiyotik duyarlılıkları tamamlanmış olarak sonuçlandırıldı.

APN'li hastaların hepsinin idrar incelemeleri ve kültürü tedavinin 48. saatinde ve tedavi bitiminde tekrarlandı.

3.2.3. Radyolojik incelemelerin değerlendirilmesi:

A. DMSA Sintigrafisi:

Akut piyelonefrit tanısı ile yatırılan tüm hastalara başvurudan sonra ilk 72 saat içinde ve izlemde enfeksiyon sonrası 6. ay veya daha sonra AÜTF Nükleer Tıp Anabilim Dalı tarafından DMSA görüntülemesi yapıldı. Teknesyum 99m –DMSA adlı radyoaktif maddenin dozu her hastanın kilosuna göre hesaplandıktan sonra intravenöz olarak verildi. Maddenin verilmesinden sonraki ilk 2-4 saat içinde dört yönden (anterior, posterior, sol posterior oblik, sağ posterior oblik) statik görüntüler alındı. Görüntüleme için General Electric Strecam 4000I Spect sistemi kullanıldı. Elde edilen görüntüler Nükleer Tıp uzmanı tarafından yorumlandı. Erken dönemde böbrek parankiminde enfeksiyonu gösteren bulgularla geç dönemde var olan renal parankimal hasar bulguları kaydedildi.

B. Üriner Sistem Ultrasonografisi:

Tüm hastalara başvurudan sonra hastanede yattığı dönem içinde AÜTF Radyodiagnostik Anabilim Dalı'nda üriner sistem ultrasonografisi yapıldı. Üriner sistem USG'de böbrek boyutlarındaki büyüme, böbrek parankim ve sinüslerine ait ekojenite değişiklikleri, kortikomedüller seçilebilirlik ve toplayıcı sistemde genişleme ile duvar kalınlaşması gibi bulgular kaydedildi.

C. Voiding sistoüetrografi:

Akut piyelonefrit anısı alan hastalarının hepsine tanı aldıktan ortalama 6 hafta sonra AÜTF Radyodiagnostik Anabilim Dalı'nda VSUG çekildi. Hastalar vezikoüretal reflü açısından değerlendirildi. İşlem öncesinde hastaların idrar mikroskopisi ve kültürü tekrarlandı. VSUG sırasında hastaların genital bölgesi steril koşullar altında temizlendikten sonra steril beslenme sondası ile mesaneye girildi. Hastanın yaşına göre hesaplanan mesane kapasitesine ($[\text{yaş}\{\text{yıl}\}+2]\times 30 \text{ ml}$) göre opak madde ve serum fizyolojik karışımı ile mesane dolduruldu. Mesane boşken, doluyken ve işeme sırasında skopi altında görüntüler alındı. Hastaların görüntülemeleri radyoloji uzmanı tarafından değerlendirilerek raporlandı. VUR tesbit edilen hastalar çalışma dışı bırakıldı, reflü olmayan hastalar çalışmaya alındı.

3.2.4 Serum MMP-9, TIMP-1 ve Hyaluronik asit(hyaluronan) Ölçümü

Çalışma AÜTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Çocuk İmmünoloji- Alerji Bilim Dalı Araştırma laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

APN tanısı ile hastaneye yatırılan hastaların kanları, akut faz reaktanlarının alımı sırasında eş zamanlı olarak, tedavi başlanmadan önce ailenin onayı alınarak alındı. Düz tüpe 3 ml alınan kan hemen 2000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek serum ayrıldı. Serum çalışma gününe kadar -20°C ' de derin dondurucuda bekletildi. Tüm örnekler toplu olarak mikroelisa yöntemi ile çalışıldı ve MMP-1, TIMP-1 ve Hyaluronik asit (hyaluronan) düzey ölçümleri yapıldı.

Serum MMP-9 Düzeyinin Ölçümü

A. MMP-9 (Matriks metalloproteinaz 9) Kitinin İçerdiği Gereç ve Solüsyonlar
R&D Systems Quantikine marka Human MMP-9 (TOTAL) ELİSA kiti
(R&D Systems, Minneapolis, USA) çalışma için kullanıldı. Test için gerekli malzemeler;

- Monoklonal antikorlar kaplı mikrokuyucuklar içeren 1 adet 96 testlik plate
- Total MMP-9 Conjugate (21 ml)
- Liyofilize formda Total MMP-9 Standardı
- Assay Dilüent RD1-34 (11 ml)

- Calibratör Dilüent RD5-10 (21 ml)
- Konsantre formda Wash Buffer (25x) (21 ml)
- Color Reagent A (12.5 ml)
- Color Reagent B (12.5 ml)
- Stop Solüsyonu (6 ml)

B. MMP-9 için Test Protokolü

1. Tüm kuyucuklara 100 µl Assay Dilüent RD1-34 dağıtılır.
2. Standart kuyucuklarına, seri sulandırma ile hazırlanan standart serumlarından; örnek kuyucuklarına ise 1:100 dilüe hasta örneklerinden 100 µl dağıtılır.
3. Üzeri kapatılan plate 500 rpm shaker üzerinde oda ısısında 2 saat inkübasyona bırakılır.
4. İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklar, multi-channel pipet kullanılarak (300 µl wash solüsyonu ile) 4 kez yıkanır.
5. Yıkama sonunda tüm kuyucuklara 200 µl MMP-9 Conjugate dağıtılır ve üstü kapatılan plate 500 rpm shaker üzerinde oda ısısında 1 saat inkübasyona bırakılır.
6. İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklar, multi-channel pipet kullanılarak (300 µl wash solüsyonu ile) 4 kez yıkanır.
7. Yıkama sonunda tüm kuyucuklara 200 µl Substrat Solüsyonu dağıtılır ve üstü kapatılan plate oda ısısında tezgah üstünde direk ışıktan etkilenmeyecek şekilde 30 dakika inkübasyona bırakılır. Kuyucukların rengi pozitifliğe bağlı olarak maviye dönmeye başlar.
8. İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklara 50 µl Stop Solüsyonu dağıtılır. Kuyucukların rengi maviden sarıya dönmeye başlar.

Plate, elisa okuyucusunda 450 nm dalga boyunda okumaya alınır. Okuma sonunda, konsantrasyonu bilinen standart serumlarına karşılık gelen optik dansite (OD) sonuçlarına göre bir grafik çizilir. Grafik çizerken semi-log grafik kağıdı kullanılır. X eksenine konsantrasyon, Y eksenine OD değerleri yerleştirilir. Oluşan eğri

kullanılarak OD sonucu bilinen hastaların total MMP-9 konsantrasyonuna ulaşılır. Grafikten elde edilen konsantrasyon sonuçları, dilüsyon faktörü göz önüne alınarak 100 ile çarpılır.

MMP-9 kitinin normal sınırları 169-705 (436) ng/ml olarak verilmiştir.

Serum TIMP-1 Düzeyinin Ölçümü

C. TIMP-1 (Metalloproteinaz Doku İnhibitörü-1, Tissue inhibitor of metalloproteinases-1) Kitinin İçerdiği Gereç ve Solüsyonlar

R&D Systems Quantikine marka Human TIMP-1(TOTAL) ELİSA kiti (R&D Systems, Minneapolis, USA) çalışma için kullanıldı. Test için gerekli malzemeler;

- Monoklonal antikorlar kaplı mikrokuyucuklar içeren 1 adet 96 testlik plate
- TIMP-1 Conjugate (21 ml)
- Liyofilize formda TIMP-1 Standardı
- Assay Dilüent RD1X (11 ml)
- Calibratör Dilüent RD5P (21 ml)
- Konsantre formda Wash Buffer (25x) (21 ml)
- Color Reagent A (12.5 ml)
- Color Reagent B (12.5 ml)
- Stop Solüsyonu (6 ml)

D. TIMP-1 için Test Protokolü

1. Tüm kuyucuklara 100 µl Assay Dilüent RD1X dağıtılır.
2. Standart kuyucuklarına, seri sulandırma ile hazırlanan standart serumlarından; örnek kuyucuklarına ise 1:100 dilüe hasta örneklerinden 50 µl dağıtılır.
3. Üzeri kapatılan plate 500 rpm shaker üzerinde oda ısısında 2 saat inkübasyona bırakılır.
4. İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklar, multi-channel pipet kullanılarak (300 µl wash solüsyonu ile) 3 kez yıkanır.
5. Yıkama sonunda tüm kuyucuklara 200 µl TIMP-1 Conjugate dağıtılır ve üstü kapatılan plate 500 rpm shaker üzerinde oda ısısında 1 saat inkübasyona bırakılır.

6. İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklar, multi-channel pipet kullanılarak (300 µl wash solüsyonu ile) 3 kez yıkanır.
7. Yıkama sonunda tüm kuyucuklara 200 µl Substrat Solüsyonu dağıtılır ve üstü kapatılan plate oda ısısında tezgah üstünde direk ışıktan etkilenmeyecek şekilde 30 dakika inkübasyona bırakılır. Kuyucukların rengi pozitifliğe bağlı olarak maviye dönmeye başlar.
8. İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklara 50 µl Stop Solüsyonu dağıtılır. Kuyucukların rengi maviden sarıya dönmeye başlar.

Plate, elisa okuyucusunda 450 nm dalga boyunda okumaya alınır. Okuma sonunda, konsantrasyonu bilinen standart serumlarına karşılık gelen optik dansite (OD) sonuçlarına göre bir grafik çizilir. Grafik çizerken semi-log grafik kağıdı kullanılır. X eksenine konsantrasyon, Y eksenine OD değerleri yerleştirilir. Oluşan eğri kullanılarak OD sonucu bilinen hastaların TIMP-1 konsantrasyonuna ulaşılır. Grafikten elde edilen konsantrasyon sonuçları, dilüsyon faktörü göz önüne alınarak 100 ile çarpılır.

TIMP-1 kitinin normal sınırları 87-524 (190) ng/ml olarak verilmiştir.

Serum Hyaluronik Asit Düzeylerinin Ölçümü

E. Hyaluronik asit (Hyaluronan) Kitinin İçerdiği Gereç ve Solüsyonlar
Corgenix marka Hyaluronik asit ELİSA kiti (Corgenix, Colorado,USA) çalışma için kullanıldı. Test için gerekli malzemeler;

- Monoklonal antikorlar kaplı mikrokuyucuklar içeren 1 adet 96 testlik plate
- 1 şişe likit formda HRP Conjugat HABP (13 ml) Kullanıma hazır
- 1 şişe likit formda Substrat TMB (13 ml) Kullanıma hazır
- 1 şişe likit formda Stop Solüsyonu (0.36N Sülfirik Asit)(15 ml) Kullanıma hazır
- 1 şişe likit formda Wash Buffer (33x PBS) (30 ml) Konsantre halde
- 1 şişe likit formda Reaksiyon Buffer (57 ml) Kullanıma hazır
- 1 adet HA referans solüsyonu (800 ng/ml) (0.5 ml)
- 1 adet HA referans solüsyonu (500 ng/ml) (0.5 ml)

- 1 adet HA referans solüsyonu (200 ng/ml) (0.5 ml)
- 1 adet HA referans solüsyonu (100 ng/ml) (0.5 ml)
- 1 adet HA referans solüsyonu (50 ng/ml) (0.5 ml)
- 1 adet HA High Kontrol (366-610 ng/ml) (0.5 ml)
- 1 adet HA Low Kontrol (38-70 ng/ml) (0.5 ml)

F. Hyaluronik Asit için Test Protokolü

A1 kuyucuğu Water Blank olarak seçilir. Bu kuyucuğa çalışmanın en sonunda, okumadan hemen önce 200 µl steril distile eklenir. Bu kuyucuğa hiçbir reagenttan ve serum örneğinden konmaz. Ancak yıkama sırasında yıkanır.

Tüm standartlar çift çalışılır.

1. A1 ve A2 kuyucuğu Water Blank olarak seçilir ve çalışmanın sonuna kadar bu kuyucuk boş bırakılır. Hiçbir reagent ya da serum konmaz. Bu kuyucuğa okumadan hemen önce 200 µl steril distile su eklenecektir. Dilüe edilen referans solüsyonlarından 100 µl alınıp B1/B2 pozisyonundan F1/F2 pozisyonu dahil olmak üzere kuyucuklara dağıtılır. G1/G2 pozisyonundaki kuyucuklara 100 µl reaksiyon buffer eklenir. (Bu kuyucuk Reagent Blank kuyucuğudur ve konsantrasyonu 0 dır). H1/H2 pozisyonu ile A3/A4 pozisyonlarına dilüe High ve Low kontrol serumlarından 100 µl dağıtılır. Kalan kuyucuklara ise 100 µl dilüe hasta örnekleri eklenir.
2. Üzeri kapatılan plate oda ısısında 1 saat inkübasyona bırakılır.
3. İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklar multi-channel pipet kullanılarak (300 µl wash solüsyonu ile) 4 kez yıkanır.
4. Water blank hariç tüm kuyucuklara 100 µl HRP-Conjugate HABP solüsyonu eklenir.
5. Üzeri kapatılan plate oda ısısında 30 dakika inkübasyona bırakılır.
6. İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklar multi-channel pipet kullanılarak (300 µl wash solüsyonu ile) 4 kez yıkanır.
7. Water blank hariç tüm kuyucuklara 100 µl Substrat TMB solüsyonu dağıtılır.
8. Üzeri açık bırakılan plate oda ısısında 30 dakika inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sırasında kuyucukların rengi maviye dönmeye başlayacaktır.

9. İnkübasyon sonunda Water blank hariç tüm kuyucuklara 100 µl Stop Solüsyonu dağıtılır. Stop Solüsyonu eklenen kuyucuklardaki renk maviden sarıya dönecektir.
10. Plate elisa okuyucusuna alınmadan önce Water blank kuyucuğuna 200 µl steril distile su eklenir.

Plate, elisa okuyucusunda 450 nm de okumaya alınır. Okuma sonunda, konsantrasyonu bilinen standart serumlarına karşılık gelen optik dansite (OD) sonuçlarına göre bir grafik çizilir. Grafik çizerken lineer grafik kağıdı kullanılır. X eksenine konsantrasyon, Y eksenine OD değerleri yerleştirilir. Oluşan eğri kullanılarak OD sonucu bilinen hastaların HA konsantrasyonuna ulaşılır. Çıkan sonuçlar dilüsyon faktörü göz önüne alınarak 10 ile çarpılır.

HA kitinin normal değerleri 0-75 ng/ml olarak verilmiştir.

3.3 İstatiksel Değerlendirme

Çalışmanın istatiksel değerlendirilmesi Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda SPSS 11.7 istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Grupların karşılaştırılması için Ki-kare test, Mann-Whitney U testi kullanıldı. $P < 0.05$ istatiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışma grubunu AÜTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Nefroloji Bilim Dalı'nda Ocak 2005 ile Ocak 2007 tarihleri arasında ilk atak APN tanısı ile yatırılarak izlenen 23 hasta oluşturdu. Benzer yaş grubundan 41 sağlıklı çocuk kontrol grubu olarak değerlendirildi. Hasta ve kontrol grubunun epidemiyolojik, klinik ve laboratuvar özellikleri tablo 2 ve tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 2: Kontrol grubunu oluşturan çocukların yaş, cinsiyet, serum MMP-9, TIMP-1 ve Hyaluronik asit düzeyleri

No	Adı Soyadı	Yaş (ay)	Cinsiyet	MMP-9 (ng/ml)	TIMP-1 (ng/ml)	Hyaluronik asit (ng/ml)
1	ŞA	18	K	500	220	28.2
2	BŞ	84	K	540	285	57.6
3	MS	19	E	178	140	33.7
4	SÖ	144	K	430	115	28.2
5	ZB	24	K	340	240	20.5
6	EM	6	E	540	180	28.8
7	SB	37	K	265	185	21.6
8	MS	36	E	180	120	21.6
9	BÖ	9	E	290	180	23
10	BK	11.5	E	280	115	21.8
11	AA	23	E	280	240	18.9
12	RÇ	48	K	320	175	17.9
13	AA	9.5	K	265	140	20.5
14	KŞ	30	E	620	150	19.5
15	FŞ	60	E	340	180	21.1
16	EM	18	K	330	280	34.6
17	SÖ	60	K	1300	280	19.1
18	AA	27	E	290	160	21.5
19	TK	24	E	950	170	23.8
20	ÖA	21	E	860	170	26.1
21	FA	11	E	480	235	32
22	YE	14	E	520	230	60
23	TD	10	K	1300	225	25.5
24	BÖ	48	K	580	260	30.7
25	ST	36	K	150	220	27.2
26	BD	72	K	320	195	21
27	AY	30	E	720	225	44.6
28	CK	8	E	520	155	44.2
29	NC	78	K	360	245	29.1
30	NŞ	60	K	800	170	57.1
31	SM	120	E	720	135	29.7
32	OD	90	E	320	220	29.4
33	MA	48	E	520	225	25.6
34	GY	16	E	510	240	23.5
35	İS	54	E	720	167	37.4
36	HŞ	14	E	800	175	50.3
37	EU	9	K	520	180	37.1
38	OT	60	E	720	140	24
39	AG	12	E	520	195	35.9
40	AG	6	E	720	220	62.4
41	YK	48	K	320	290	38.7

Tablo 3: Hasta grubunu oluşturan çocukların yaş, cinsiyet, akut faz reaktanları ve MMP-9, TIMP-1 ve Hyaluronik asit Düzeyleri

No	Adı Soyadı	Cinsiyet	Yaş (ay)	BK (/mm ³)	CRP (mg/dl)	EÇH (mm/ saat)	MMP-9 (ng/ml)	TIMP-1 (ng/ml)	Hyaluronik asit (ng/ml)
1	YŞ	K	56	25300	12.4	50	650	240	25
2	UT	E	17	13400	12.7	48	580	175	50
3	MD	K	38	17900	7.39	32	2000	200	15.4
4	Eİ	K	11	7300	0.32	9	790	210	26.7
5	AG	K	4.5	22900	9.1	68	1200	300	28.8
6	DY	K	84	18000	3.2	28	1900	285	16.7
7	ES	E	8	26300	7.23	40	2000	360	19.2
8	MB	K	9	7700	8.02	78	520	280	57.6
9	ÖK	K	83	19600	7.11	62	3000	260	14.8
10	SÖ	K	60	13300	12.3	18	1200	225	15.6
11	MT	E	5	22500	1.98	32	920	310	34.6
12	KT	K	42	29100	2.91	6	595	250	33.8
13	SK	K	8	15000	7.08	124	900	260	22.7
14	SD	K	96	16200	5.94	40	2880	330	23
15	İK	K	94	11200	25.6	84	720	300	17.5
16	ES	K	11	19800	12.9	72	1750	350	23
17	SÇ	K	48	9000	5.18	64	1200	220	18.1
18	TŞ	E	5	23100	11	77	1900	280	46.1
19	AY	K	16	16500	12.1	80	720	300	25
20	AB	E	7	23200	8.34	96	2000	350	22.7
21	ŞA	K	88	15500	2.2	36	1670	256	16.2
22	FT	K	8	27700	11.5	102	1600	225	14.2
23	VU	K	51	11800	4.77	38	1020	290	33.9

4.1 Kontrol Grubunun Klinik Özellikleri ve MMP-9, TIMP-1, Hyaluronik asit (hyaluronan) Düzeyleri

Sağlıklı kontrol grubunu oluşturan 41 çocuğun 17'si kız (% 41.5), 24'ü erkek (% 58.5) idi. Çocukların yaş dağılımına bakıldığında ortalama 37.7 ay (6-144 ay; ortanca 27 ay) olarak bulundu. Serum MMP-9, TIMP-1 ve Hyaluroik asit düzeyleri ise sırasıyla 518 ± 269 ng/ml, 196 ± 48 ng/ml ve 31 ± 12 ng/ml olarak saptandı.

4.2 Hasta Grubunun Klinik ve Laboratuvar Özellikleri

Hastaların yaş ve cinsiyetleri: Çalışmaya dahil edilen 23 hastanın 5'i erkek (% 21.73), 18'i kız (% 78.27) idi. Hastaların yaş ortalaması 37.1 ay (4.5- 96 ay; ortanca 17 ay) idi.

Hastaların yakınmaları: Tablo 4'te görüldüğü gibi hastalarımızın tümünde (%100) ateş yüksekliği bulundu. Bunu %34.7 ile kusma yakınması izledi. Daha az sıklıkta idrar yaparken yanma, idrar kaçırma, karın ağrısı ve febril konvülziyon tanımlandı. Hastaların hiçbirinde işeme disfonksiyonu bulgusu yoktu. Fizik muayenelerinde hastaların 3'ünde (% 13) kostovertebral açılı hassasiyeti mevcuttu. Toplam 19 erkek hastanın 2'sinde (% 10.5) fimozis varken kızların hiçbirinde labiyal yapışıklığa rastlanmadı.

Tablo 4: Hastaların yakınmaları

YAKINMA	SAYI	YÜZDE (%)
Ateş yüksekliği	23	100
Kusma	8	34.7
İdrar yaparken yanma	5	21.7
Karın ağrısı	4	17.3
İdrar kaçırma	2	8.6
Febril konvülziyon	1	4.3

4.3 Hasta Grubunun Laboratuvar İncelemeleri:

4.3.1 İdrar incelemesi ve kültürü:

Hastaların tedavi öncesinde alınan idrar örnekleri incelendiğinde 23 hastanın 9'unda (% 39.1) nitrit pozitifliği, 20'sinde (% 86.9) lökosit esterez pozitifliği tesbit edildi. Hastaların hepsinin idrar kültüründe 100.000 kol/ml E.coli üremesi oldu, başka bir bakteri saptanmadı.

4.3.2. Akut Faz Reaktanları:

Hastaların başvuru sırasında bakılan akut faz reaktanlarının ortanca değerleri beyaz küre sayısı 16500 / mm³ (7300- 29100/ mm³), eritrosit çökme hızı 62 mm/ saat (6-124 mm/saat) ve C reaktif protein 7.3 mg/ dl (0.3-25.6 mg/dl) olarak yüksek bulundu (Tablo 5). Hastalardan 3'nün beyaz küre sayısı, 2'sinin eritrosit çökme hızı ve 1'nin C reaktif proteini normal sınırlar içindeydi.

Tablo 5: Hasta grubunu oluşturan çocukların akut faz reaktanlarının ortalama sonuçları

Beyaz küre (/ mm ³)	Eritrosit çökme hızı (mm/ saat)	C reaktif protein (mg/dl)
17552 ± 6341	57.48 ± 30.2	8.43 ± 5.2

4.3.3. Radyolojik İncelemeler:

A. DMSA sintigrafi sonuçları:

Akut piyelonefrit tanısı konulan 23 hastanın tanı konulduktan sonraki ilk 72 saat içinde çekilen DMSA sintigraflerinden 11'inde (% 47.8) böbrek parankiminde aktivitede azalma ve kenar düzleşmesi bulguları tesbit edildi (Tablo 6). Hastalar DMSA sintigrafi sonuçlarının normal olup olmamasına göre iki gruba ayrıldı ve hastaların sonuçları ve kontrol grubu ile karşılaştırma buna göre yapıldı.

Tablo 6: Hastaların akut dönemde(ilk bir hafta içinde) yapılan DMSA sintigrafisi sonuçları

DMSA Sintigrafisi	Hasta Sayısı	Yüzde (%)
Normal	12	52.2
Patolojik bulgular	11	47.8
• aktivitede azalma	6	26.1
• aktivitede azalma, kenar düzleşmesi	5	21.7

Hastaların tedavi sonrası takiplerinde kalıcı renal parankimal skarı göstermek amacıyla tedaviden en az 6 ay sonra çekilen DMSA sintigrafilerinde hiç skar bulgusuna rastlanmadı. Yirmiüç (23) hastanın DMSA sintigrafisi tamamen normal bulundu.

4.3.4 Hasta Grubunun MMP-9, TIMP-1 ve Hyaluronik asit Düzeyleri

Hastaların ortanca serum MMP-9 düzeyleri 1200 ng/ml (520-3000 ng/ml), TIMP-1 düzeyleri 280 ng/ml (175-360 ng/ml), Hyaluronik asit (hyaluronan) düzeyleri 23 ng/ml (14.8 -57.6 ng/ml) olarak saptandı. Hastaların tümünde MMP-9, TIMP-1 düzeyleri normallerinin üzerindeydi, HA düzeyi ise normal sınırlarda bulundu. Hastaların ortalama MMP-9, TIMP-1 ve HA düzeyleri tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo 7: Hasta grubunun MMP-9, TIMP-1 ve Hyaluronik asit (Hyaluronan) düzeylerinin ortalaması

MMP-9 (ng/ml)	TIMP-1 (ng/ml)	Hyaluronik asit (ng/ml)
1380 ± 722	270 ± 51	26.5 ± 11

4.4 Hasta Grubu ile Kontrol Grubunun Yaş ve Cinsiyet Özelliklerinin Karşılaştırılması

Akut piyelonefrit tanısı alan hastalarla kontrol grubuna alınan hastaların yaşları arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p > 0.05$). Cinsiyet özellikleri açısından ise anlamlı farklılık saptanmıştır ($p < 0.05$) (Tablo 8).

Tablo 8: Hasta grubu ile kontrol grubunun yaş ve cinsiyet özellikleri

	Hasta Grubu	Kontrol Grubu	P değeri
Yaş (ay)	4.5 - 96 (ortanca 17)	6-14 (ortanca 27)	P > 0.05
Cinsiyet (E/ K)	5 / 18	24/ 17	P < 0.05

4.5 Hasta Grubunda DMSA Bulgusu Olan ve Olmayan Hastaların Yaş ve Cinsiyet Özellikleri Açısından Karşılaştırılması

Hasta grubu kendi içinde DMSA bulgusu olanlar ve olmayanlar olarak iki gruba ayrıldığında, bu iki grup yaş ve cinsiyet özellikleri açısından karşılaştırıldı. Her iki grup arasında anlamlı farklılık görülmedi ($p > 0.05$) (Tablo 9).

Tablo 9: DMSA bulgusu olan ve olmayan hastaların yaş ve cinsiyet özellikleri

	DMSA Bulgusu Olanlar	DMSA Bulgusu Olmayanlar	P değeri
Yaş (ay)	5-84 (ortanca 38)	4.5-96 (ortanca 16.5)	P > 0.05
Cinsiyet (E/K)	2/9	2/10	P > 0.05

4.6 DMSA Bulgusu Olan ve Olmayan Hastaların Akut Faz Reaktanlarının Karşılaştırılması

DMSA bulgusu olan ve olmayan hastaların hepsinde akut faz reaktanları yüksek bulundu. Her iki grup akut faz reaktanları açısından (beyaz küre, eritrosit çökme hızı ve C reaktif protein) karşılaştırıldığında anlamlı olarak farklılık saptanmadı ($p > 0.05$) (Tablo 10).

Tablo 10: DMSA bulgusu olan ve olmayan hastaların AFR karşılaştırılması

	DMSA Bulgusu Olanlar	DMSA Bulgusu Olmayanlar	P değeri
Beyaz küre (/ mm³)	19854 (7700-29100; ortanca 19600)	15441 (7300-26300; ortanca 14700)	P > 0.05
EÇH (mm/ saat)	63 (6-124; ortanca 62)	56 (9-84; ortanca 56)	P > 0.05
CRP (mg/dl)	7.6 (2.9-12.4; ortanca 7.3)	9.1 (0.3-25.6 mg; ortanca 8.1)	P > 0.05

4. 7 DMSA Bulgusu Olan ve Olmayan Hastaların Hyaluronik Asit Düzeylerinin Karşılaştırılması

DMSA bulgusu olanlarla olmayanların Hyaluronik asit düzeyleri karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı farklılık olmadığı saptanmıştır (p< 0.05) (Tablo 11).

Tablo 11: DMSA bulgusu olan ve olmayan hastaların Hyaluronik asit düzeylerinin karşılaştırılması

	DMSA Bulgusu Olanlar	DMSA Bulgusu Olmayanlar	P değeri
Hyaluronik Asit (Hyaluronan) (ng/ml)	28.41 (15-58; ortanca 23.8)	24.84 (14-50; ortanca 23)	P > 0.05

4.8 DMSA Bulgusu Olan ve Olmayan Hastaların MMP-9 ve TIMP-1 Düzeyleri Açısından Karşılaştırılması

DMSA bulgusu olanlarla olmayanlar MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri açısından karşılaştırıldığında her iki grup arasında anlamlı farklılık olmadığı görülmüştür (p> 0.05) (Tablo 12).

Tablo 12: DMSA bulgusu olan ve olmayan hastaların MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerinin karşılaştırılması

	DMSA Bulgusu Olanlar	DMSA Bulgusu Olmayanlar	P değeri
MMP-9 (ng/ml)	1430.45 (520-3000; ortanca 1250)	1330.91 (580-2880; ortanca 1200)	P > 0.05
TIMP-1 (ng/ml)	265.45 (200-350; ortanca 260)	275.83 (175-360; ortanca 300)	P > 0.05

4.9 Hasta Grubu İle Kontrol Grubunun Hyaluronik Asit (Hyaluronan) Düzeylerinin Karşılaştırılması

Hasta grubu ile kontrol grubunun Hyaluronik Asit düzeylerinin normal sınırlar içerisinde olduğu bulundu. Hasta grubu ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık olmadığı görüldü ($p > 0.05$) (Tablo 13).

Tablo 13: Hasta grubu ve kontrol grubunun Hyaluronik asit düzeylerinin karşılaştırılması

	Hasta Grubu	Kontrol Grubu	P değeri
Hyaluronik Asit (Hyaluronan) (ng/ml)	26.55 (14-58; ortanca 23)	31.06 (18-62; ortanca 28.2)	P > 0.05

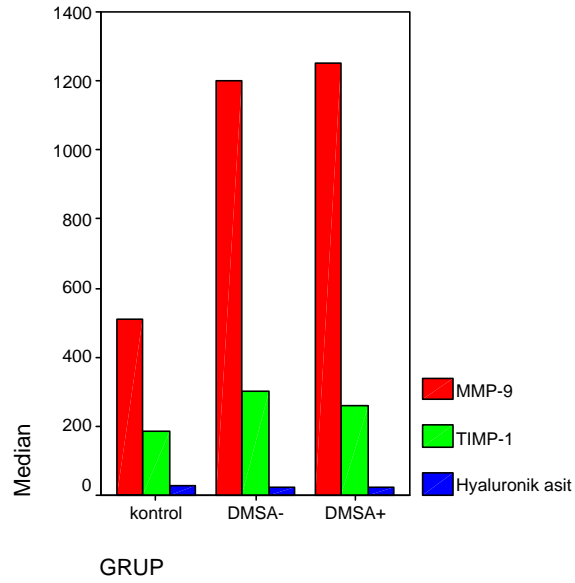
4.10 Hasta Grubu ile Kontrol Grubunun MMP-9, TIMP-1 Düzeyleri Açısından Karşılaştırılması

Hasta grubunun serum MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri ölçüldüğünde hepsinin hem kontrol grubuna göre, hem de kitin normal değerlerine göre yüksek olduğu bulundu. Hasta grubu ile kontrol grubu serum MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri açısından karşılaştırıldığında her iki grup arasında istatistiksel anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$) (Tablo 14).

Tablo 14: Hasta grubu ile kontrol grubunun MMP-9, TIMP-1 düzeylerinin karşılaştırılması

	Hasta Grubu	Kontrol Grubu	P değeri
MMP-9 (ng/ml)	1380±722	518±269	P < 0.05
TIMP-1 (ng/ml)	270±51	196±48	P < 0.05

Kontrol grubu DMSA bulgusu olan ve olmayan hasta gruplarının MMP-9, TIMP-1 ve Hyaluronik asit düzeyleri şekil 5’de toplu olarak gösterilmiştir.



Şekil 5 : DMSA bulgusu olan ve olmayan hastalarla kontrol grubunun MMP-9, TIMP1 ve Hyaluronik asit düzeylerinin grafik ile gösterilmesi

5. TARTIŞMA

Akut piyelonefrit çocukluk çağında üst solunum yolu enfeksiyonundan sonra 2. sıklıkta karşımıza çıkan, morbiditesi yüksek bir enfeksiyondur. Günümüzde tekrarlayan APN sonrasındaki skar gelişimi hipertansiyon, böbrek fonksiyonlarında ilerleyici bozulma ve böbrek yetmezliği gibi uzun dönem komplikasyonlara yol açabilmektedir. Akut piyelonefrit sonucunda gelişen renal parankimal skarın son dönem böbrek yetmezliği gelişen çocukların % 24'den daha fazlasından sorumlu olduğu gösterilmiştir (81). Ülkemizde yapılan çalışmalarda ise kronik böbrek yetmezliği nedeniyle periton diyalizi uygulanan hastaların %38.8'inden vezikoüretal reflü ve idrar yolu enfeksiyonlarının sorumlu olduğu bildirilmiştir (1,2).

İdrar yolu enfeksiyonlarının sıklığı yaş, cinsiyet ve kullanılan tanı yöntemlerine bağlı olarak farklılık göstermekle birlikte İYE sıklığı 2 yaş altı çocuklarda %5'in üzerindedir. İdrar yolu enfeksiyonu sıklığı 2 ay ile 2 yaş arasındaki kız çocuklarında erkeklere göre 2 kat daha fazladır (9). Tüm yaş grupları dikkate alındığında kızlarda % 3-5, erkeklerde % 1 oranında görülmektedir (10). Erkek çocuklarda akut piyelonefrit sıklıkla ilk bir yaşta karşımıza çıkmakta, bu yaş döneminden sonra ise kızlarda daha sık olarak görülmektedir.

Bizim çalışmamızda akut piyelonefrit tanısı alan 23 hastanın 5'i erkek (% 21.73), 18'i kız (% 78.27) hastaydı. Hastalarımızın yaş ortalaması 37.1 ay (4.5- 96 ay; ortanca 17 ay) olarak bulunmuştur. Erkek hastalarımızın yaş ortalaması 8.4 ay (5- 17 ay), kız hastalarımızın yaş ortalaması 44.8 ay (4.5- 96 ay) idi. Bu sonuçlar daha önce yapılan çalışmalarla uyumlu bulunmuştur (8).

Akut piyelonefrit tanısı diğer tüm hastalıklarda olduğu gibi detaylı bir öykü, fizik muayene ile birlikte tam idrar tetkiki, idrar kültürü ve akut faz reaktanlarının değerlendirilmesi ile konulmaktadır (22) . Klinik bulgular yenidoğan döneminde ve süt çocukluğunda hastalığa özgül olmamakla birlikte tüm yaş gruplarında en sık olarak ateş karşımıza çıkmaktadır. Bizim hastalarımızın tümünde de ateş yüksekliği görülmüştür. Ateşle birlikte tanı için gerekli olan idrarda lökositüri ve idrar

kültüründe üreme olması ve akut faz reaktanlarından beyaz küre sayısı, eritrosit çökme hızı ve C reaktif protein düzeylerinde yükseklik hastalarımızda saptanmıştır. Hastalardan 3'nün beyaz küre sayısı, 2'sinin eritrosit çökme hızı ve 1'nin C reaktif proteini normal sınırlar içinde olmasına karşın diğer akut faz reaktanları yüksek olarak bulundu.

Akut piyelonefrit tanısı konulan hastalara yapılan radyolojik görüntülemelerin amacı, renal parankimdeki enfeksiyonu gösterebilmek, enfeksiyona yatkınlık yaratan anatomik bozuklukları ortaya çıkarabilmek, renal parankimal hasar varlığını tesbit etmek ve hasarın izlemine yapabilmektir (6, 70) . APN tanısı alan çocuklarda erken dönemde DMSA sintigrafi incelemesi ve üriner sistem USG 'si yapılmaktadır. DMSA sintigrafi incelemesi enfeksiyonun ve renal parankimal skar varlığının saptanmasında en duyarlı ve altın standart olarak kabul edilen görüntüleme yöntemidir (82). Yapılan çalışmalarda APN tanısı alan çocuklarda erken dönemde yapılan DMSA sintigrafisinde % 50-85 oranında renal parankimde bozukluk olduğu gösterilmiştir (75, 76). Ateşli idrar yolu enfeksiyonu geçirdikten sonra ortaya çıkan kalıcı renal parankimal skar görülme oranı ise % 8-63 oranında bildirilmektedir. Bizim çalışmamızda da diğer çalışmalarla uyumlu olarak akut dönemde 23 hastanın 11'inde (% 47.8) aktivitede azalma ve kenar düzensizliği şeklinde akut enfeksiyon bulgusu saptanmıştır. Kalıcı renal parankimal skarı göstermek açısından hastalara enfeksiyondan sonra en erken 6. ayda çekilen DMSA sintigrafide ise hastalarımızın hiçbirinde renal parankimal skara rastlanmamıştır. Bu durum vezikoureteral reflü, üriner sistemde tıkanıklık ve çift toplayıcı sistem varlığı gibi üriner sistem anomali olanlar ile tekrarlayan ateşli İYE geçiren hastaların çalışmaya alınmamasına bağlı olabilir. Ancak erken tanı ve tedavinin skar gelişimini önlemedeki önemini de göstermektedir.

Akut piyelonefritin en önemli komplikasyonu olan renal parankimal skar gelişiminin tanıda belirlenmesi, geri dönüşümsüz böbrek hasarı, buna bağlı ortaya çıkabilecek hipertansiyon, böbrek fonksiyonlarında ilerleyici bozulma, böbrek yetmezliği gibi uzun dönem komplikasyonların önlenmesinde en önemli basamaktır. Akut piyelonefritin erken tanı ve tedavisi ile bu komplikasyonların tümü önlenmektedir

(28). Daha önce belirtildiği gibi renal parankimal skarın gösterilmesinde en etkili ve altın standart yöntem DMSA sintigrafi incelemesidir. Ancak bu görüntüleme yönteminin hastaların radyasyona maruz kalması, damar yolu girişi yapılması, sıklıkla çekim için sedasyona ihtiyaç duyulması ve yüksek maliyeti gibi olumsuz yanları bulunmaktadır. Bu nedenle araştırmacılar renal parankimal skar gelişimini erken dönemde saptanmasına yönelik yeni yöntemler geliştirilmesi konusunda çalışmaktadırlar. Yapılan çalışmalarda akut piyelonefrit tanısı alan hastaların hem klinik hem de laboratuvar özellikleri ile renal parankimal skar arasındaki bağlantıları inceleyen çok sayıda çalışma bulunmaktadır (28, 39, 68, 69, 83-85). Pecile ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada beyaz küre sayısı, eritrosit çökme hızı, CRP düzeylerindeki yükseklik ile DMSA sintigrafide ortaya çıkan skar arasındaki bağlantı incelenmiştir. Beyaz küre sayısındaki yüksekliğinin skar gelişiminde önemli olmadığı buna karşın eritrosit çökme hızı ve CRP 'deki yüksekliğin renal parankimal skar gelişimi ile korele olduğu öne sürülmüş, CRP'nin skarı göstermedeki sensitivitesi yüksek, spesifitesi düşük bulunmuştur (83). Benador ve arkadaşlarının yaptıkları başka bir çalışmada ise CRP'nin DMSA sintigrafide böbrek hasarını göstermede yüksek sensitivite ve düşük spesifiteye sahip olduğu gösterilmiştir (68).

Bizim çalışmamızda APN tanısı alan 23 hastanın 11'inde DMSA sintigrafide aktivitede azalma ve kenar düzleşmesi şeklinde akut enfeksiyon bulguları gözlenmiştir. DMSA sintigrafide bulgu olan hastalar ve bulgu olmayan hastalar akut faz reaktanları açısından karşılaştırıldığında her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p > 0.05$). Elde ettiğimiz bu sonuçlar DMSA sintigrafisinde ortaya çıkan bulguları önceden tahmin etmede beyaz küre sayısının, EÇH'nin ve CRP'nin anlamlı olmadığını düşündürmektedir. Bu sonucun hasta sayısının az olmasından kaynaklanabileceğinin göz önünde tutulması gerekmektedir.

Yapılan çalışmalarda renal parankimal skar gelişimi ile enfeksiyonun geçirildiği yaş arasında bağlantı araştırılmıştır (27, 28, 76). Martinell ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bir yaşından küçük hastalarda skar riskinin yüksek olduğu, 5 yaşından büyük hastalarda ise bu riskin düşük olduğu belirtilmiştir (27). Bunun yanında Lin ve Benador'un yaptığı çalışmada klinik ve laboratuvar bulguları ile APN tanısı alan

çocuklarda gelişen renal parankimal hasarla yaşın bağlantılı olmadığı, ortaya çıkan inflamasyon yanıtının şiddetinin ve etkilenen böbrek hacminin skar gelişiminde etkili olduğu öne sürülmüştür (28, 76). Çalışmamızda DMSA bulgusu olan ve olmayan hastalar yaş açısından karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı saptanmıştır ($p > 0.05$).

Renal parankimal skar gelişimi pek çok ilerleyici böbrek hastalığı sonucu ortaya çıkan interstisiyel fibrozise bağlı oluşmaktadır. Renal fibrogenezisin kemokinlerin ve büyüme faktörlerinin salınımına bağlı ortaya çıktığı düşünülmektedir. Kemokinlerin ve büyüme faktörlerinin salınımından sonra matriks yapımında artış ardından da matriks degradasyonunda azalma görülmekte, bu da ekstraselüler matriks içeriklerinin değişmesi ile sonuçlanmaktadır. Ekstraselüler matriks, organların dokularının yapısında ve homeostazisinde anahtar rol oynamaktadır. Ekstraselüler matriksin yeniden yapılanması, sentez ve ESM elemanlarının depolanmasındaki değişiklik ile bunların proteolitik olarak yıkımı arasındaki denge ile sağlanmaktadır. Günümüzde geçerli olan hipotez normal yeniden yapılanmanın ve doku iyileşmesinin ESM protein sentezi ve yıkımı arasındaki dengeye bağlı olduğu yönündedir (50). İnflamasyon sırasında ESM'te yıkıma yol açan pek çok proteaz bulunmakta, fakat bunlar içinde yer alan metalloproteinazlar en önemlilerini oluşturmaktadır. Son yıllarda akut piyelonefrit sonrası renal parankimal skar gelişim mekanizmalarının daha iyi anlaşılması nedeniyle bu sistemde rol alan bazı sitokinlerin ve enzimlerin erken dönemde skar gelişimi üzerine etkileri incelenmeye başlanmıştır. Bu amaçla üzerinde çalışılan enzimlerden biri de MMP-9 ve TIMP-1'dir. Matriks metalloproteinaz ailesinin tümünün onarım ve yeniden yapılanma sırasında rol aldığı gösterilmiştir. Bu nedenle inflamasyonla giden her hastalıkta matriks metalloproteinazların görev aldığı öne sürülmüş, periodontal hastalıklar, bazı artritlerde, vaskülitlerde MMP inhibitörlerinin tedavi de kullanılabileceği belirtilmiştir (55). Pek çok hastalık patogenezinde görev alan MMP-9 ve TIMP-1'in böbrek hastalıklarının patogenezinde de rol aldığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Akiyama ve arkadaşlarının erişkinlerde yaptıkları çalışmada Ig A nefropatisi, lupus nefriti ve membranöz nefritte serum MMP-1, -2, -3, TIMP-1, -2 ve Tip 4 kollajen düzeyleri çalışılmış, mesangioproliferatif nefrit olan Ig A nefriti ve lupus nefritinde

MMP-3 ve TIMP-2'nin arttığı, membranoproliferatif glomerulonefritte ise tip 4 kollajen, MMP-2 ve TIMP-1 düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Elde edilen bu veriler sonucunda glomerulonefritli hastaların ESM metabolizmasında dengesizlik olduğu ve buna bağlı olarak glomerulonefrit tablosunun ortaya çıktığı öne sürülmüştür(4). Endo ve arkadaşlarının erişkinlerde yaptıkları çalışmada son dönem böbrek yetmezliğine ilerleyen farklı glomeruler hastalıkların, mesangial matrikse olan tip 4 kolajen, proteoglikan ve laminin akımı ve glomeruler bazal membranda incelleme sonucu olduğu belirtilmiştir (58). Hem mesangial matriksin hem de glomeruler bazal membran metabolizmasının sentez ve yıkım ile sağlandığı belirtilmiştir. Bu nedenle farklı glomeruler hastalığa sahip olan hastaların serumlarında MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri çalışılmış ve MMP-2 düzeylerinin bu hastalarda yüksek olduğu, MMP-9 düzeylerinin ise farklılık göstermediği bulunmuştur. Bu sonuçlarla MMP-2'nin glomeruler bazal membran yıkımında önemli rol aldığı, MMP-9'un ise mesangial matrikste yıkıma yol açtığı ileri sürülmüştür (58). Nakamura ve arkadaşlarının erişkinlerde yaptıkları çalışmada ise polikistik böbrek hastalığı olan hastaların serumlarında MMP-1, TIMP-1 ve tip 4 kollajen düzeyleri çalışılmış, MMP-1, TIMP-1 ve tip 4 kollajen serum düzeylerinin polikistik böbrek hastalığına sahip olanlarda kontrol grubuna göre belirgin yüksek olduğu bulunmuş. Sonuç olarak ESM'te meydana gelen sentez ve yıkım olayları arasındaki dengesizliğin buna yol açtığı, bu olayın kistik tübüllerden salgılanan metalloproteinazlara bağlı olarak ortaya çıktığı öne sürülmüştür (59).

Pek çok böbrek hastalığında MMP-9 ve TIMP-1'in yeri ve hastalık oluşumundaki rolü üzerine çalışılmışsa da idrar yolu enfeksiyonları ile ilişkisini ortaya koyan sadece bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada Chromek ve arkadaşları akut piyelonefritli çocuklarda akut dönemde ve 6 haftalık izlem sonrasında idrar MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerini incelemişlerdir (3). Bu çalışmada kontrol grubu olarak böbrek dışı nedene bağlı ateşi olan çocuklar değerlendirilmiştir. Akut piyelonefritli çocuklarda akut dönemde bakılan idrar MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerinin, hastaların 6 haftalık izlem sonrasındaki değerlerine göre yüksek bulunduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada akut piyelonefritli çocukların akut dönmedeki MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerinin böbrek dışı nedene bağlı ateşi olan çocuklarda saptanan değerlere göre

istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu verilerle MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerindeki artışla renal parankimal skar gelişimi arasında korelasyon olabileceği öne sürülmüştür. İdrarda MMP-9'a göre TIMP-1 düzeyi yüksek olanlarda daha ciddi renal hasar olduğu gösterilmiş ve bu sonuç TIMP-1 ile renal fibrozis arasında bağlantı olduğunu araştırmacılara düşündürmüştür. Çalışmanın sonucunda akut piyelonefrit sırasında MMP-9 ve TIMP-1'in üretildikleri, MMP-9 / TIMP-1 oranındaki artışın renal skar gelişiminde etkili olmadığı, MMP-9'u baskılamaya yönelik tedavi biçimlerinin renal skar gelişiminde etkili olmayacağı, skar gelişiminin MMP-9 / TIMP-1 oranındaki azalma ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (3).

Çalışmamızda bu bilgiler doğrultusunda MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri ilk atak akut piyelonefrit tanısı ile hastaneye yatırılan hastalarımızda araştırılmıştır. Bu atak öncesinde skar gelişme olasılığının yüksek olması nedeniyle üriner sistemde anatomik bozukluğu olan hastalar ve tekrarlayan APN geçiren hastalar çalışma dışında bırakılmıştır. Bu çalışma belirleyebildiğimiz kadarıyla akut piyelonefrit geçiren çocuklarda serumda MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerinin bakıldığı ilk çalışmadır. Hastalarımızda serum MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerini kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda her iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmıştır ($p < 0.05$).

Akut piyelonefrit geçiren hastalar kendi içlerinde DMSA bulgusu olan hastalar ve olmayan hastalar olarak gruplandırılıp serum MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri karşılaştırıldığında DMSA bulgusu olan hastalarla olmayan hastalar arasında anlamlı farklılık olmadığı görülmüştür ($p > 0.05$). Benzer sonuçlar Chromek ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada da gösterilmiştir (3).

Akut enfeksiyon sırasında DMSA sintigrafisi bulgusu olan hastalara en erken 6. ayda tekrar DMSA sintigrafisi çekilmiş, renal parankimal skar açısından hastalar değerlendirilmiştir. Hastaların hiçbirinde renal parankimal skara rastlanmamıştır. Bu nedenle serum MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerinin skar gelişimi üzerine rolü net olarak değerlendirilememiştir.

Serum Hyaluronik asit düzeyi aslında karaciğer fibrozisinin çok kullanılan invaziv olmayan bir göstergesidir (5). Pek çok çalışmada HA serum seviyeleri ile karaciğer

fibrozisinin derecesi arasında bağlantı olduğu gösterilmiştir (5, 86). Bu durumlar dışında biliyer atrezi, kronik ve aktif hepatitlerde de karaciğer fibrozisinin önemli bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (87, 88, 89). Ekstraselüler matriksin bir elemanı olan HA'in karaciğer fibrozisini göstermedeki önemi ile ilgili pek çok çalışma yapılsa da HA'in renal parankimal skar gelişimindeki rolü ile ilgili şimdiye kadar hiç çalışma yapılmamıştır. Çalışmamızda APN tanısı alan hastalarımızla kontrol grubunun serum HA düzeylerini karşılaştırılmıştır. Her iki grup arasında serum HA düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p > 0.05$). Hyaluronik asit serum düzeylerinin iki grup arasında farklılık göstermemesi HA'in akut piyelonefrit sırasındaki inflamasyonda rol oynamadığını düşündürmüştür. Hastalarımızın hiçbirinde skar gelişmemesi nedeniyle bu konuda yorum yapılamamıştır.

Çalışmamızda elde edilen verileri tekrar gözden geçirirsek;

- Akut piyelonefrit sırasında akut dönemde gelişen renal parankimal etkilenme ile beyaz küre, eritrosit çökme hızı ve C-reaktif protein arasında ilişki olup olmadığı incelenmiştir. Yapılan değerlendirme sonucunda DMSA sintigrafisi bulguları ile akut faz reaktanları arasında bağlantı olmadığı bulunmuştur. Sonuçta tanı anında akut faz reaktanlarında saptanan yükseklikle akut dönemde görülen renal parankimal etkilenme arasında bağlantı kurulmaması gerektiği düşünülmüştür.
- Pek çok böbrek hastalığının patogeneğinde etkili olan ve ekstraselüler matriksin önemli komponentlerinden MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri APN'li hastalar ve sağlıklı kontrol grubunda çalışılmış, her iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmıştır. Sonuç olarak piyelonefrit akut döneminde MMP-9 ve TIMP-1 serum düzeylerinin yüksek olduğu bulundu ve akut faz reaktanı gibi rol oynadığı belirlenmiştir. Fakat bu testlerin pahalı olması ve diğer akut faz reaktanlarına göre daha hassas olmaması nedeni ile pratikte kullanımının uygun olmadığı düşünülmüştür.

- Renal parankimal skarın göstergesi olarak kullanılabilen serum MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri DMSA bulgusu olan hastalar ve olmayan hastalar karşılaştırıldığında fark bulunmamıştır. Bu bulgularla serum MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerinin akut dönemde enfeksiyonun şiddetini belirleyen bir inceleme olmadığı sonucuna varılmıştır.
- Karaciğer fibrozisini göstermede çok önemli bir parametre olan serum hyaluronik asit (hyaluronan) düzeyi sağlıklı kontrol grubu ve APN tanısı alan hastalarda karşılaştırıldığında anlamlı farklılık bulunmamıştır. Hastalarımızın hiçbirinde skar gelişmemesi göz önüne alındığında hastalardaki serum HA düzeyinin skar gelişmesindeki rolünün tam olarak değerlendirilmesi mümkün olamamış, ancak akut dönemde yüksek olmadığı saptanmıştır. Karaciğer fibrozisi gelişiminin kronik bir süreç olduğu düşünülürse bunun akut değil kronik süreçte etkili olabileceği düşünülmüştür.

Bazı çocukların APN sonrası renal parankimal skar gelişimine daha yatkın olmaları vezikoureteral reflü varlığı, tanı sırasında küçük yaşta olma, tedavide gecikme ve tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonlarına bağlanmaktadır. Akut piyelonefrit tanısı alan hastaların altta yatan anomaliler açısından dikkatli olarak radyolojik incelemelerle değerlendirilmesi, tedavinin erken ve etkili olması ve bu hastaların yakın izlemlerinin yapılması ile APN'e bağlı komplikasyonlar azaltılabilmektedir. Tüm bu yaklaşımlar belli bir mali yük getirmekte ve bu nedenle tanıyı kolaylaştırıcı, gelişebilecek komplikasyonları önceden belirleyen yöntemler üzerinde çalışılmaktadır. Bizim çalışmamızda ele alınan serum MMP-9, TIMP-1 ve Hyaluronik asit düzeylerinin APN enfeksiyonunda erken dönemde oluşan renal parankimal etkilenmeyi göstermede etkili olmadığı gösterilmiştir. Hastalarımızın hiçbirinde renal parankimal skar gelişmediğinden bu parametrelerin skar ile ilişkisi değerlendirilememiştir. Ancak bu bulgu erken tanı ve tedavinin önemini birkez daha gözler önüne sermiştir. Bundan sonraki çalışmaların renal parankimal skar geliştirme riski yüksek olan çocukları saptamada etkili olabilecek erken belirleyiciler ve buna zemin hazırlayabilecek genetik faktörler üzerinde yoğunlaşması gerektiği düşünülmüştür.

6. ÖZET

Akut Piyelonefrit- Matriks Metalloproteinaz-9, Metalloproteinaz-1 Doku İnhibitörü ve Hyaluronik Asit Arasındaki İlişkinin İncelenmesi

İdrar yolu enfeksiyonları (İYE) çocukluk çağında üst solunum yolu enfeksiyonundan sonra en sık görülen enfeksiyondur ve morbiditesi çok yüksektir. Tüm yaş grupları dikkate alındığında kızlarda % 3-5, erkeklerde % 1 oranında görülmektedir. İdrar yolu enfeksiyonunun en önemli komplikasyonu olan renal parankimal skar hipertansiyon, böbrek fonksiyonlarında ilerleyici bozulma ve böbrek yetmezliği gibi uzun dönem komplikasyonlara yol açabilmektedir.

Renal parankimal skar oluşumunda vezikoureteral reflü, erken yaş, tedavide gecikme ve tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonları risk faktörleri olarak bilinmekle birlikte halen skar oluşum mekanizmaları net olarak bilinmemekte, genellikle enfeksiyon sırasında salgılanan sitokinlere ve büyüme faktörlerine bağlı olduğu düşünülmektedir.

Matriks Metalloproteinaz-9 (MMP-9) ve Metalloproteinaz Doku İnhibitörü-1(TIMP-1, MMP-9'un ana inhibitörü) ve Hyaluronik asitin (hyaluronan) enfeksiyon sırasında salgılandığı ve ekstraselüler matrikste yeniden yapılanma ve iyileşme sırasında görev aldığı bilinmektedir. Bu çalışmada ilk kez geçirilen akut piyelonefrit tanısı ile hastaneye yatırılan çocuklarda MMP-9, TIMP-1 ve Hyaluronik asit arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya yaşları 4.5 ay- 96 ay arasında değişen 23 hasta dahil edilmiştir. Benzer yaşta 40 sağlıklı çocuk kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmada akut piyelonefrit tanısı alan hastaların beyaz küre sayısı, eritrosit çökme hızı ve C reaktif protein gibi akut faz reaktanları düzeyleri incelenmiştir. Bu değerlerin DMSA sintigrafisinde erken dönemde oluşan renal parankimal etkilenme ile ilişkisi ele alınmıştır. Akut faz reaktanları ile erken dönemde renal parankimal etkilenmenin derecesi arasında ilişki olmadığı bulunmuştur.

Çalışmada ayrıca akut piyelonefrit tanısı alan hastaların ve sağlıklı kontrol grubunun serum MMP-9, TIMP-1 ve HA düzeyleri çalışılmış ve her iki grup arasında karşılaştırma yapılmıştır. Hasta grubunun serum MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu, serum HA düzeylerinin ise farklılık göstermediği görülmüştür. MMP-9 ve TIMP-1'in akut piyelonefrit gelişmesinde rol aldığı akut faz reaktanı olarak kullanılabilceği fakat maliyeti nedeniyle kullanımının tartışmaya açık olduğu düşünülmüştür.

Akut piyelonefrit sonrasında erken dönemde oluşan renal parankimal hasarın gösterilmesinde serum MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerinin etkilerinin anlaşılması için hasta grubu DMSA sintigrafide bulgusu olanlar ve olmayanlar olarak 2 gruba ayrılarak incelenmiştir. Bu iki grup arasında ise MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri bakımından fark olmadığı gösterilmiştir. Akut piyelonefrit sonrasında uzun dönemde ortaya çıkan renal parankimal skarı göstermede serum MMP-9, TIMP-1 ve HA düzeylerinin etkisi ise hastaların hiçbirinde skar gelişmemesi nedeniyle değerlendirilememiştir.

Anahtar sözcükler: Akut piyelonefrit, renal parankimal skar, matriks metalloproteinaz-9, matriks metalloproteinaz doku inhibitörü-1, hyaluronik asit

7. SUMMARY

Matrix Metalloproteinase-9, Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 and Hyaluronic Acid in Acute Pyelonephritis

The urinary tract is a common site of infection in the pediatric population. UTI occur in % 3-5 of girls and % 1 of boys. Urinary tract infections are important because they cause acute morbidity and may result in long-term medical problems, including hypertension and reduced renal function.

The risk factors that make some children more vulnerable to renal tissue damage include vesicoureteral reflux, young age at the first infection, delayed onset of treatment and recurrent infections. But actual etiology and pathogenesis of renal scarring remain unknown.

Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) and Hyaluronic acid seem to play an important role during inflammation. They effect extracellular matrix protein synthesis and degradation. The aim of this study was to elucidate the role of matrix metalloproteinase-9, tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and Hyaluronic acid in the first acute pyelonephritis. The study consist of 23 patients of ages ranging between 4.5 and 96 months.

Routine examinations with blood count, C-reactive protein and sedimentation rate were done. ^{99m}Tc-dimercaptosuccinic acis scintigraphy was performed a within one week after admission and six months after the acute infection. Abnormal findings in DMSA as indicators of renal damage do not correlate with elevated white blood cell, C-reactive protein and sedimentation rate.

In this study, serum MMP-9, TIMP-1 and HA levels in patients with acute pyelonephritis and in healthy controls measured. Serum MMP-9 and TIMP-1 levels were significantly higher than those in healthy controls. But serum HA levels were the same with healty controls.

In order to understand the role of serum MMP-9 and TIMP-1 levels in early renal paranchymal damage after acute pyelonephritis, patients were analyzed in two groups according to their syntigraphic findings. No difference was found between two groups. Unfortunately we couldn't evaluate the role of MMP-9, TIMP-1 and HA levels in late renal paranchymal scaring because none of our cases had renal scar.

Key words: Acute pyelonephritis, renal paranchymal scarring, matrix metalloproteinase-9, tissue inhibitors of metalloproteinase-1, hyaluronic acid

8. KAYNAKLAR

- 1) Registry of the Nephrology, Dialysis and Transplantation In Turkey, 2002.
- 2) Bakkaloğlu SA, Ekim M, Sever L, Noyan A, Aksu N, Akman S, Yalçinkaya F, Öner A, Kara OD, Çalışkan S, Anarat A, Dusunsel R, Donmez O, Gür Güven A, Bakkaloğlu A, Denizmen Y, Soylemezoglu O, Ozelik G. Chronic peritoneal dialysis therapy in Turkish children. *Perit Dial Int.* 2004; 24: suppl 47.
- 3) Chromek M, Tullus K, Hertting O, Jaremko G, Khalil A, Li Y, Brauner A. Matrix Metalloproteinase-9 and Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-9 in acute pyelonephritis and renal scarring. *Pediatr Res.* 2003; 53: 698-705.
- 4) Akiyama K, Shikata K, Sugimoto H, Matsuda M, Shikata Y. Changes in serum concentrations of Matrix Metalloproteinases, Tissue Inhibitors of Metalloproteinases and Type IV Collagen in patients with various types of glomerulonephritis. *Research Communications in Molecular Pathology and Pharmacology.* 1997; 95: 115-128.
- 5) George J, Stern R. Serum hyaluronan ve hyaluronidase: very early markers of toxic liver injury. *Clin Chim Acta.* 2004; 348: 189-197.
- 6) Jantusch B, Kher K. Urinary Tract Infection. In: Avner ED, Hermon WE, Niaudet P. *Textbook of Pediatric Nephrology* 5 th edition. Philadelphia: Lippincott-Williams and Wilkins. 2004 : 553- 573.
- 7) Chang S, Shortliffe L. Pediatric urinary tract infections. *Pediatr Clin N Am.* 2006; 53: 379-400.

- 8) Pattaragarn A, Alon S. Urinary tract infection in childhood. *Minerva Pediatr.* 2002; 54: 401-413.
- 9) American Academy of Pediatrics, Committee on Quality Improvement, Subcommittee on Urinary Tract Infection. Practice Parameter: The diagnosis, treatment, and evaluation of the initial urinary tract infection in febrile infants and young children. *Pediatrics*: 1999; 103: 843-852
- 10) Elder JS. Urologic Disorders in Infants and Children. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB. *Nelson, Textbook of Pediatrics* 17th edition. Philadelphia: Saunders, 2004 : 1785- 1789.
- 11) Roberts JA. Etiology and pathophysiology of pyelonephritis. *Am J Kidney Dis.* 1991; 17: 1-9.
- 12) Chon C, Lai F, Shortliffe LM. Pediatric urinary tract infections. *Pediatr Clin N Am.* 2001; 48: 1441-1459.
- 13) Sobel JD. Pathogenesis of urinary tract infection: role of host defenses. *Infect Dis Clin North Am.* 1997; 11: 531-549.
- 14) Lidfelt KJ, Bollgren J, Nord CE. Changes in periurethral flora and UTI. *Dialog Pediatr.* 1998; 21: 2-3.
- 15) Brumfitt W, Gargan RA, Hamilton- Miller JM. Periurethral enterobacterial carriage preceding urinary infection. *Lancet.* 1987; 11: 824-826.
- 16) Rushton G, MD, FAAP. Urinary tract infections in children, epidemiology, evaluation, and management. *Ped Urol.* 1997; 44: 1133-1169.

- 17) Jakobsson B, Soderlundh S. Diagnostic significance of 99m Tc-dimercaptosuccinic acid (DMSA) scintigraphy in urinary tract infection. *Arch Dis Child.* 1992; 67: 1338-1342.
- 18) Benador D, Benador N. Cortical scintigraphy in the evaluation of renal parenchymal changes in children with pyelonephritis. *J Pediatr.* 1994; 124: 17-20.
- 19) Jahnukainen T, Chen M, Celsi G. Mechanism of renal damage owing to infection. *Pediatr Nephrol.* 2005; 20: 1043-1053.
- 20) Jacobson SH, Hansson S, Jakobsson B. Vesicoureteric reflux: occurrence and long term risks. *Acta Paediatr Suppl.* 1999; 88: 22-30.
- 21) Craig JC, Irwig LM, Knight JF. Does treatment of vesicoureteric reflux in childhood prevent end-stage renal disease attributable to reflux nephropathy?. *Pediatrics.* 2000; 105: 1236-1241.
- 22) Gobet R, Cisek LJ, Chang B, Barnewolt CE, Retik AB, Peters CA. Experimental fetal vesicoureteric reflux induces renal tubular and glomerular damage, and is associated with persistent bladder instability. *J Urol.* 1999; 162: 1090-1095.
- 23) Sweeney B, Cascio S, Velayudham M. Reflux nephropathy in infancy: a comparison of infants presenting with and without urinary tract infection. *J Urol.* 2001; 166: 648-650.
- 24) Marra GM, Oppedisso C, Ardissino G, Dacco' V, Testa S, Avolio L, Taioli E, Sereni F. Severe vesicoureteral reflux and chronic renal failure: a condition peculiar to male gender? Data from the ItalKid. project. *J Pediatr.* 2004; 144: 677-681.

- 25) Noe HN. The long term results of prospective sibling reflux screening. *J Urol.* 1992; 148: 1704-1707.
- 26) Ataei N, Madani A, Esfahani ST, Kejbafzadeh A, Ghaderi O, Jalili S, Sharafi B. Screening for vesicoureteral reflux and renal scars in siblings of children with known reflux. *Pediatr Nephrol.* 2004; 19: 1127-1131.
- 27) Martinell J, Claesson I, Lidin G. Urinary infection, reflux and renal scarring in females continuously followed for 13-38 years. *Pediatr Nephrol.* 1995; 9: 131-136
- 28) Lin K, Chiu N, Chen M. Acute pyelonephritis and sequelae of renal scar in pediatrics first febrile urinary tract infection. *Pediatr Nephrol.* 2003; 18: 362-365.
- 29) Laestadius A, Söderblom T, Aperia A. Developmental aspect of *Escherichia coli*-induced innate responses in rat renal epithelial cells. *Pediatr Res.* 2003; 54: 1-6.
- 30) Joseph J, Darcie A, Shaw K. Diagnosis and management of pediatric urinary tract infection. *Clin Microbiol Rev.* 2005 ;18: 417- 422
- 31) Mulvey MA, Lopez-Boado YS, Wilson CL, Roth R, Parks WC, Heuser J, Hultgren SJ. Induction and evasion of host defenses by type 1-piliated uropathogenic *Escherichia coli*. *Science.* 1998; 282: 1494-1497.
- 32) HedlundM, Svensson M, Nilsson A, Duan RD, Svanborg C. Role of ceramide-signalling in cells exposed to P-fimbriated *Escherichia coli*. *J Exp Med.* 1996; 183: 1037-1044.
- 33) Hedlund M, Frendeus B, Wachter C, Hang L, Fischer H, Svanborg C. Type 1 fimbriae deliver an LPS- and TLR-4-dependent activation signal to CD14 negative cells. *Mol Microbiol.* 2001; 39: 542-552.

- 34) Haraoka M, Hang L, Frendeus B, Godaly G, Burdick M. Neutrophil recruitment and resistance to urinary tract infections. *J Infect Dis.* 1999; 180: 1220-1229.
- 35) Uhlen P, Laestadius A, Jahnukainen T. Alpha-haemolysin of uropathogenic *E.coli* induces Ca oscillations in renal epithelial cells. *Nature.* 2000; 405: 694-697.
- 36) Lorenz E, Mira JP, Frees KL, Schawrtz DA. Relevance of mutations in the TLR4 receptor in patients with gram-negative septic shock. *Arch Intern Med.* 2002; 162: 1028-1032.
- 37) Lohner K, Latal A, Lehrer RI, Ganz T. Differential scanning microcalorimetry indicates that human defensin, HNP-2 interacts specifically with biomembrane mimetics systems. *Biochemistry.* 1997; 36: 1525-1531.
- 38) Hedges S, Agace W, Svensson M. Uroepithelial cells are part of a mucosal cytokine network. *Infect Immun.* 1994; 62: 2315-2321.
- 39) Sheu J, Chen M, Lue K. Serum and urine levels of interleukin-6 and interleukin-8 in children with acute pyelonephritis. *Cytokine.* 2006; 36: 276-282.
- 40) Nicole LE, Brunka J, Orr P, Wilkins J, Harding GKM. Urinary immunoreactive interleukin-1 α and interleukin-6 in bacteriuric institutionalized elderly subjects. *J Urol.*1993; 149: 1049-1053.
- 41) Benson M, Jodal U, Agace W, Hellstrom M. Interleukine -6 and IL-8 in children with febrile urinary tract infection and asymptomatic bacteriuria. *J Infect Dis.* 1996; 174: 1080-1084.

- 42) Cotton S, Gbadegesin R, Williams S. Role of TGF- β 1 in renal parenchymal scarring following childhood urinary tract infection. *Kidney Int.* 2002; 61: 61-67.
- 43) Godaly G, Hang L, Frendeus B, Svanorg C. Transepithelial neutrophil migration is CXCR1 –dependent in vitro and is defective in IL-8 receptor mutant mice. *J Immunol.* 2000; 165: 5287-5294.
- 44) Hang L, Frendeus B, Godaly G. IL-8 receptor knockout mice have subepithelial neutrophil entrapment and renal scarring following acute pyelonephritis. *J Infect Dis.* 2000; 182: 1738-1748.
- 45) Gbadegesin RA, Cotton SA, Coupes BM. Plasma and urinary soluble adhesion molecule expression is increased during first documented acute pyelonephritis. *Arch Dis Child.* 2002; 86: 218-221.
- 46) Roberts JA. Vesicoureteral reflux and pyelonephritis in the monkeys: a review. *J Urol.* 1992; 148: 1721-1725.
- 47) Roberts JA, Roth JK Jr, Domingue G, Lewis RW, Kaaxk B, Baskin G. Immunology of pyelonephritis in the primate model. V. Effect of superoxide dismutase. *J Urol.* 1982; 128: 1394- 1400.
- 48) Stamenkovic I. Extracellular matrix remodelling: the role of matrix metalloproteinases. *J Pathol.* 2003; 200: 448-464.
- 49) Almond A. Hyaluronan. *Cell Mol Life Sci.* 2007; 64: 1591-1596.
- 50) Eddy AA. Molecular basis of renal fibrosis. *Pediatr Nephrol.* 2000; 15: 290-301.

- 51) Ronco P, Lelongt B. Matrix Metalloproteinases in kidney disease progression and repair: A case of flipping the coin. *Semin Nephrol.* 2007; 27: 352-362.
- 52) McCawley LJ, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: they're not just for matrix anymore!. *Curr Opin Cell Biol.* 2001; 13: 534-540.
- 53) Ravanti L KV. Matrix metalloproteinases in wound repair(review). *Int J Mol Med.* 2000; 6: 391-407.
- 54) Martin J, Eynstone L, Davies M. Induction of metalloproteinases by glomerular mesangial cells stimulated by proteins of extracellular matrix. *J Am Soc Nephrol.* 2001; 12: 88-96.
- 55) Parks W, Wilson C, Boado Y. Matrix Metalloproteinases As modulators of inflammation and innate immunity. *Immunology.* 2004; 4: 617-629.
- 56) Nee LE, McMorro T. TNF- α and IL-1 β mediated regulation of MMP-9 and TIMP-1 in renal proximal tubular cells. *Kidney Int.* 2004; 66: 1376-1386.
- 57) Duymelinck C, Dauwe SHE, De greef KEJ. TIMP-1 gene expression and PAI-1 antigen after unilateral ureteral obstruction in the adult male rat. *Kidney Int.* 2000; 58: 1186-1201.
- 58) Endo T, Nakabayashi K, Sekiuchi M, Kuroda T, Soejima A, Yamada A. Matrix Metalloproteinase-2, Matrix Metalloproteinase-9, and Tissue Inhibitor of metalloproteinase-1 in the peripheral blood of patients with various glomerular diseases and their implication in pathogenetic lesions: study based on an enzyme-linked assay and immunohistochemical staining. *Clin Exp Nephrol.* 2006; 10: 253-261.
- 59) Nakamura T, Ushiyama C, Suzuki S. Elevation of serum levels of metalloproteinase-1, tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and type IV

collagen, and plasma levels of metalloproteinase-9 in polycystic kidney disease. *Am J Nephrol.* 2000; 20: 32-36.

- 60) Laurent T, Fraser R. Hyaluronan *FASEB J.* 1992; 6: 2397-2404.
- 61) Ferrara JJ, Reed RK, Dyess DL, Townsley MI, Onarheim H, Laurent TC. Increased hyaluronan flux from skin following burn injury. *J Surg Res.* 1991; 50: 240-244.
- 62) Onarheim H, Missavage AE, Gunther RA, Kramer GC, Reed RK, Laurent TC. Marked increase of plasma hyaluronan after major thermal injury and infusion therapy. *J Surg Res.* 1991; 50: 259-265.
- 63) George J, Stern R. Serum hyaluronan and hyaluronidase: very early markers of toxic liver injury. *Clin Chim Acta.* 2004; 348: 189-197.
- 64) Rao PN, Bronshter OL. Prediction of early graft function by effluent levels of hyaluronic acid in clinical liver transplantation. *Transplant Proc.* 1993; 25: 2141-2142.
- 65) Cho SJ, Lee SJ. ACE gene polymorphisms and renal scar in children with acute pyelonephritis. *Pediatr Nephrol.* 2002; 17: 491-495.
- 66) Pardo R, Malga S, Cotto E, Navaro M, Alvarez V, Espinos L, Alvarez R, Vallo A, Loris C, Braga S. Renin-angiotensin system polymorphism and renal scarring. *Pediatr Nephrol.* 2003; 18: 110-114.
- 67) Gervais A, Galetto-Lacour A, Gueron T. Usefulness of procalcitonin and C-reactive protein rapid tests for the management of children with urinary tract infection. *Ped Infect Dis J.* 2001; 20: 507-511.

- 68) Benador N, Siegrist CA, Gendrel D. Procalcitonin is a marker of severity of renal lesions in pyelonephritis. *Pediatrics*. 1998; 102: 1422-1425.
- 69) Pecile P, Romenolla C. Procalcitonin and pyelonephritis in children. *Curr Opin Infect Dis*. 2007; 20 : 83-7.
- 70) Belman AB. Vezicoureteral reflux. *Ped Clin North Am*. 1997; 44: 1771-1190.
- 71) Stokland E, Hellstrom M, Jacobsson B, Jodal U. Early ^{99m}Tc dimercaptosuccinic acid (DMSA) scintigraphy in symptomatic first time urinary tract infection. *Acta Paediatr*. 1996 ; 85 : 430-436.
- 72) Piepsz A, Blafox MD, Gordon I. Consensus on renal cortical scintigraphy in children with urinary tract infection. Scientific Committes of Radionuclides in Nephrourology. *Semin Nucl Med*. 1999; 29: 160-174.
- 73) Rushton HG. The evaluation of acute pyelonephritis and renal scarring with Tc ^{99m}-DMSA scintigraphy: evolving concepts and future directions. *Pediatr Nephrol*. 1997; 11: 108-120.
- 74) Ridson RA, Godley ML, Parkhouse HF. Renal pathology and the ^{99m}Tc-DMSA image during the evolution of the early pyelonephritic scar: an experimental study. *J Urol*. 1994; 151: 767-773.
- 75) Hiroaoka M, Hashimoto G. Early treatment of urinary infection prevents renal damage on cortical scintigraphy. *Ped Nephrol*. 2003; 18: 115-118.
- 76) Benador D, Benador N, Slosman D. Are younger children at highest risk of renal sequel after pyelonephritis?. *Lancet*. 1997; 4: 17-19.

- 77) Smith T, Gordon I, Kelly JP. Comparison of radiation dose from intravenous urography and ^{99m}Tc DMSA scintigraphy in children. *Br J Radiol.* 1998; 71: 314-319.
- 78) Ditchfield MR, Summerville D, Grimwood K. Time course of transient cortical scintigraphic defects associated with acute pyelonephritis. *Pediatr Radiol.* 2002; 31: 849-852.
- 79) Hoberman A, CHarron M, Hickey RW. Imaging studies after a first febrile urinary tract infection in young children. *N Engl J Med.* 2003; 348: 195.
- 80) Hellerstein S. Antibiotic treatment for urinary tract infections in pediatric patients. *Minerva Pediatr.* 2003; 55: 395-406.
- 81) Webb N, Brenchley P. Cytokines and cell adhesion molecules in the inflammatory response during acute pyelonephritis. *Nephron Experimental Nephrology.* 2004; 96: e1-e6.
- 82) Chiou Y, Wang S, Tang M. Renal Fibrosis: Prediction from acute pyelonephritis focus volume measured at ^{99m}Tc Dimercaptosuccinic Acid SPECT. *Radiology.* 2001; 221: 366- 370.
- 83) Pecile P, Miorin E, Romanello C, Falletti E. Procalcitonin: a marker of severity of acute pyelonephritis among children. *Pediatrics.* 2004 ; 114 : e249 –e254.
- 84) Fretzayas A, Moustaki M, Gourgiotis D. Polymorphonuclear elastase as a diagnostic marker of acute pyelonephritis in children. *Pediatrics.* 2000; 105: e28-e235.
- 85) Lai S, Ng K. Retrospective analysis of inflammatory parameters in acute pyelonephritis. *Scand J Urol Nephro.* 2003; 37: 250-252.

- 86) Bolarin DM, Azinge DM. Biochemical markers, extracellular components in liver fibrosis and cirrhosis. *Nig Q J Hosp Med.* 2007; 17 : 42-52.
- 87) Ukarapol N, Wongsawasdi L, Ong-Chai S. Hyaluronic acid: Additional biochemical marker in the diagnosis of biliary atresia. *Pediatr Int.* 2007; 49 :608-11.
- 88) Isman FK, Kucur M, Baysal B, Özkan F. Evaluation of serum hyaluronic acid level and hyaluronidase activity in acute and chronic hepatitis C. *Int Med Res.* 2007; 35 :346-52.
- 89) Lebenstejn DM, Skiba E, Sobeniec-Lotowska ME, Kaczmarek M. Serum hyaluronan and laminin level in children with chronic hepatitis B during long-term lamivudine treatment. *Hepatogastroenterology.* 2007; 54: 834-838.

10. EKLER

EK-1: HASTA İZLEM FORMU

Hasta No

Adı Soyadı

Yaş

Cinsiyet

Dosya no:

Tam kan sayımı: BK Hb PLT

Sedimantasyon

CRP

TİT: dansite pH lökosit esterase nitrit

İdrar mikroskopisi:

İdrar kültürü:

DMSA 1:

DMSA 2:

VSUG

Üriner sistem USG

MMP-9, TIMP-1 ve Hyaluronik asit seviyesi