TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

NON-NÖROJENİK NÖROJENİK MESANE VE ÜROFASİAL (OCHOA) SENDROM OLGULARINDA *HPSE2* GEN DEĞİŞİMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Uzm. Dr. Burcu BULUM

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
ÇOCUK NEFROLOJİSİ BİLİM DALI
TIPTA YAN DAL UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Zeynep Birsin ÖZÇAKAR

ANKARA
2013

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

NON-NÖROJENİK NÖROJENİK MESANE VE ÜROFASİAL (OCHOA) SENDROM OLGULARINDA *HPSE2* GEN DEĞİŞİMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Uzm. Dr. Burcu BULUM

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
ÇOCUK NEFROLOJİSİ BİLİM DALI
TIPTA YAN DAL UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Zeynep Birsin ÖZÇAKAR

Bu tez, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu tarafından 12B3330023 Proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
2013

KABUL VE ONAY

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN		
Adı, Soyadı	: Burcu Bulum	**Tarih:**
Anabilim/Bilim Dalı	:Çocuk Sağlığı ve Hast. AD / Ç. Nefroloji BD.	12/11/2013
Tez Danışmanı	:Doç. Dr. Z. Birsin Özçakar	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER			
Tezin Başlığı:			
Tezin Niteliği:	☐ Ana Dal Uzmanlık Tezi	☒ Yan Dal Uzmanlık Tezi	
Kaçıncı tez sınavı olduğu:	☐ 1	☒ 2	☐ 3

III. KARAR
Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak ☒ Kabulüne ☐ Reddine ☐ Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine oy birliği / oy çokluğu ile karar verilmiştir.

IV. AÇIKLAMALAR
Lütfen, tezin reddi veya düzeltme istenmesi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız

Jüri Başkanı

Unvanı, Adı, Soyadı

Prof. Dr. Mesiha Ekim

Ç. Nefroloji A.D. Anabilim/Bilim Dalı

Jüri Üyesi

Unvanı, Adı, Soyadı

Prof. Dr. Fatoş Yalçınkaya

Anabilim/Bilim Dalı

Jüri Üyesi

Unvanı, Adı, Soyadı

Doç. Dr. Z. Birsin Özçakar

Çocuk Nefrolojisi A.D. Anabilim/Bilim Dalı

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

KABUL VE ONAY i
İÇİNDEKİLER ii
SİMGELER VE KISALTMALAR iv
ŞEKİLLER DİZİNİ v
TABLOLAR DİZİNİ vi
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Normal İşeme Döngüsü 3
2.2. Çocuklarda İdrar Kaçırma 5
2.3. Fonksiyonel İşeme Bozuklukları 6
2.4. Patofizyoloji 7
2.5. Gündüz Görülen Alt Üriner Sistem Bozuklukları 8
2.6. Klinik ve Laboratuar Değerlendirme 11
2.7. Radyolojik Değerlendirme 13
2.8. Ürodinamik İnceleme Yöntemleri 13
2.9. Tedavi 14
2.10. Hinman Sendromu 16
2.11. Ürofasial Sendrom (Ochoa Sendromu) 20
3. GEREÇ VE YÖNTEM 26
3.1. Çalışma Grubunun Seçimi 26
3.2. Laboratuar İncelemeleri 26
3.2.1. DNA İzolasyonu 27
3.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) 28
3.2.5. DNA Dizi Analizi 30
4. BULGULAR 31
4.1. Bulguların Özeti 44
5. TARTIŞMA 46
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 56
ÖZET 57

SUMMARY 59
KAYNAKLAR 61
EK 69
EK-1: Non-Nörojenik Nörojenik Mesane, Ürofasial Sendrom ve Alt Üriner Sistem Disfonksiyonu Olan Hasta Takip Formu 69

SİMGELER VE KISALTMALAR

AÜS **:** Alt üriner sistem

AÜSD **:** Alt üriner sistem disfonksiyonu

CAKUT **:** Böbrek ve üriner sistemin konjenital anomalileri

DES **:** Disfonksiyonel eliminasyon sendromu

DMSA **:** Dimerkaptosüksinik asit

EDTA **:** Etilendiamintetraasetikasit

HPA2 **:** Heparanase 2

HSPGs **:** Heparan sülfat proteoglikanları

İBSS **:** İşeme bozukluğu semptom skorlaması

İYE **:** İdrar yolu enfeksiyonu

KBH : Kronik böbrek hastalığı

MRG **:** Magnetik rezonans görüntüleme

MSÜG **:** Miksiyon sisto-üretrografi

NNNM **:** Non-nörojenik nörojenik mesane

PZR **:** Polimeraz zincir reaksiyonu

SDBY **:** Son dönem böbrek yetmezliği

TAK **:** Temiz aralıklı kateterizasyon

UNC **:** Ureteroneosistostomi

US **:** Ultrasonografi

ÜFS **:** Ürofasial Sendrom

VÜR **:** Vezikoüreteral reflü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Mesanenin dolma ve işeme fazı 3

Şekil 2.2. Disfonksiyonel işeme durumunda mesane ve mesane boynunun şematik görüntüsü 9

Şekil 2.3. Disfonksiyonel işemesi olan çocuklarda idrar tutma manevraları 12

Şekil 2.4. Non-nörojenik nörojenik mesanesi olan H26 numaralı hastamızın MSÜG görüntüsü 19

Şekil 2.5. H01 ve H02 numaralı ÜFS'lu olgularımızın yüz görünümü..... 21

Şekil 2.6. Çalışmalardan ÜFS'u olan olguların yüz görünümleri 22

Şekil 2.7. Çalışmalardan ÜFS'u olan olguların MSÜG görüntüleri 22

Şekil 2.8. İnsan ve fare dokularında *HPSE2* ekspresyonu 25

Şekil 4.1. Saptanmış olan gen değişimleri..... 37

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 2.1. İdrar kaçırma yakınmasına yol açan anatomik ve nörolojik nedenler 5

Tablo 2.2. Gündüz görülen alt üriner sistem bozuklukları 6

Tablo 2.3. Gündüz görülen alt üriner sistem bozukluklarının mesane döngüsüne göre sınıflandırılması 7

Tablo 3.1. *HPSE2* geni mutasyon analizinde kullanılan primerler 29

Tablo 4.1. Hastaların alt gruplara göre demografik ve klinik özellikleri 32

Tablo 4.2. Hastaların alt gruplarına göre uygulanan tedavi yöntemleri 33

Tablo 4.3. *HPSE2* gen değişimi saptanan hastalar ve gen değişimleri..... 38

Tablo 4.4. Çalışma grubunu oluşturan hastaların klinik ve laboratuar verileri 39

Tablo 6.1. Ürofasial Sendrom olgularında bugüne kadar tanımlanmış olan tüm *HPSE2* mutasyonları 48

1. GİRİŞ VE AMAÇ

‘Fonksiyonel işeme bozuklukları’ altta yatan anatomik ya da nörolojik herhangi bir bozukluk olmadan işlevsel idrar kaçırma problemlerini bir araya toplamak için kullanılan bir terimdir (1). Çocukluk çağında sık görülen bir klinik tablodur. Geniş bir klinik spektrumdan oluşur. **‘Non-nörojenik nörojenik mesane (NNNM)’** spektrumun en ucunda yer alan, işeme bozukluğunun en ağır formudur. Şiddetli bir disfonksiyonel işeme tablosu vardır ve nörojenik mesanelerde görülene benzer şekilde hem alt hem de üst üriner sistem etkilenmesi bulunur. Bu durum hastalarda ağır morbiditeye neden olur (2). Ancak bu hastalarda altta yatan nörolojik bir neden bulunmaz. **‘Ürofasial Sendrom (Ochoa Sendromu)’** ise NNNM’nin erken başlangıçlı ve şiddetli bir formudur. Gülerken ağlayan yüz ifadesi ve belirgin nörolojik hasar veya anatomik mesane çıkış obstrüksiyonu olmaksızın mesanenin tam olarak boşaltılamaması ile karakterize bir hastalıktır (3-9).

Ürofasial Sendrom (ÜFS) ve NNNM’si olan çocuklarda tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonu (İYE), ürosepsis, hipertansiyon ve son dönem böbrek yetmezliği (SDBY)’ne ilerleyebilen geri dönüşümsüz kronik böbrek hastalığı (KBH) gelişebilmekte, hastaların bir kısmına diyaliz tedavisi uygulanmakta, bir kısmına da böbrek nakli yapılmaktadır. Böbrek yetmezliğine bağlı morbidite ve mortalite oranları renal replasman tedavisinin uygulanmasına rağmen son derece yüksektir. Hastalarda büyüme geriliği ve pek çok sistemi ilgilendiren komplikasyonlar gelişir. Bu hastaların yaşamları boyunca yakın takip edilmesi gerekmektedir.

Ürofasial Sendrom ilk kez 1979 yılında Dr. Rafael Elejalde (10) tarafından tanımlanmış olup, 1987 yılında Ochoa ve Gorlin (11) tarafından otozomal resesif geçiş gösteren genetik bir hastalık olduğu ortaya konmuştur. Son yıllarda artan genetik çalışmalarla 2010’dan itibaren ÜFS’a yol açan *HPSE2* ve *LRIG2* mutasyonları tanımlanmıştır (6-8, 12, 13). Çalışmalarda *HPSE2* mutasyonunun saptandığı hastaların yaklaşık 1/3’üne yakını, *LRIG2* mutasyonunun saptandığı hastaların da 2/3’ü Türk hastalardır (8). Ayrıca bugüne kadar *HPSE2* veya *LRIG2*

mutasyonu saptanmış ailelerin yarısından fazlasında da akraba evliliği vardır. Ülkemizde akraba evliliğinin yüksek oranda olması nedeniyle bizim toplumumuzda OR geçen hastalıkların oranının diğer toplumlara göre daha yüksek düzeyde olması beklenmektedir. Genetik hastalıkların ülkemizde olma ihtimalini arttırmaktadır.

Non-nörojenik nörojenik mesane patogenezi ise halen tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu hastalık ilk tanımlandığından beri tuvalet eğitimi tamamlandıktan sonra ortaya çıkan, nedeni tam olarak belli olmayan edinsel bir patoloji olarak bilinmektedir. Ancak son yıllarda erken çocukluk döneminde bildirilen olgularla konjenital alt tiplerinin de olduğu, bu patolojinin her zaman edinsel olmadığı, altta yatan genetik faktörlerin hastalık patogenezinde rol alabileceğini düşündürmektedir (14-16).

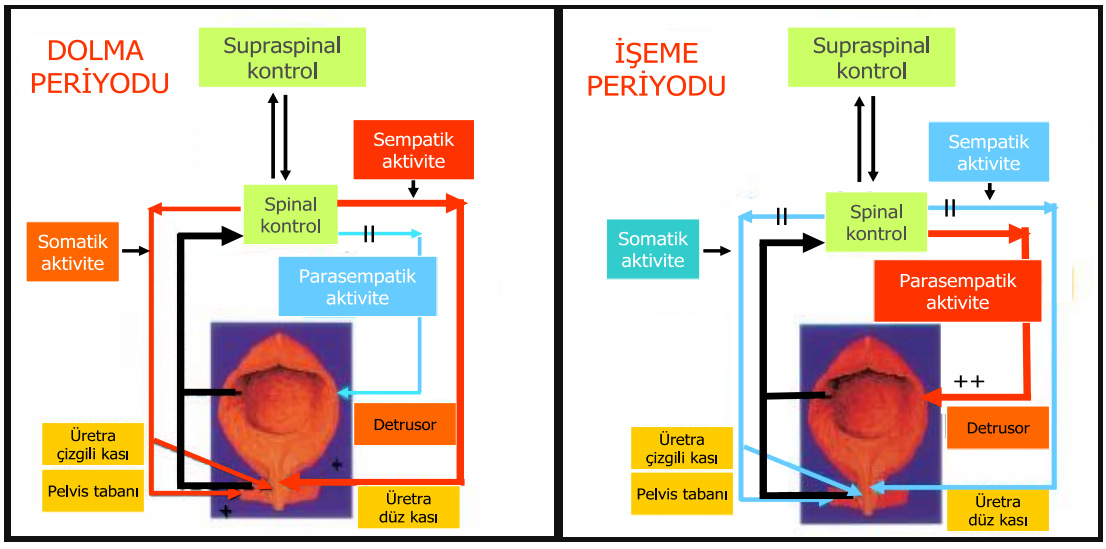
Bizim çalışmamızın amacı ülkemizdeki ÜFS, NNNM olgularında ve ağır alt üriner sistem disfonksiyonu (AÜSD) olan olgularda *HPSE2* gen değişimlerinin araştırılmasıdır. Bildiğimiz kadarı ile NNNM'si olan olgularda daha önce yapılan herhangi bir genetik çalışma bulunmamaktadır. Yüz bulgusu olmayan mesane fonksiyon bozukluğuna sahip hastaların da ÜFS'lu hastalarla aynı klinik, radyolojik ve ürodinamik özelliklere sahip olması ve ÜFS'u olan olgularda *HPSE2* gen ekspresyonunun mesanede yüksek oranda saptanmış olması, aynı gendeki değişimlerin izole NNNM ya da ağır AÜSD olan olgularda da sorumlu olabileceklerini düşündürmektedir. Bu çalışma ile ilk kez ülkemizdeki ÜFS'lu hastalarda *HPSE2* gen değişimlerine bakılmıştır. Ayrıca tüm dünyada yine ilk kez NNNM veya ağır AÜSD olan çocuklarda bu gendeki değişimlerin varlığı araştırılacaktır. Nörojenik mesane hastalıklarından sorumlu genlerin bulunması bu hastalıkların patogenezine ışık tutacak, hastalığa ve hastalara yaklaşımı değiştirecek, ilerleyen zamanlarda bu hastalıkların tanı ve tedavisine yönelik önemli ilerlemeler sağlayacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Normal İşeme Döngüsü

Normal koşullar altında mesane/detrüsör kası, mesane boynu/sfinkter kompleksi ve üretradan oluşan alt üriner sistem koordine bir şekilde çalışır. Alt üriner sistemin iki önemli fonksiyonu; düşük basınçlar altında, kaçırma olmadan, yeterli miktarda idrarın depolanması ve takiben detrüsör kasılmaları ve sfinkter kompleksinin yeterli derecede gevşemesiyle aralıklı olarak, istemli şekilde, düşük basınçta ve yeterli miktarda idrar boşaltılmasıdır. Normal işeme döngüsü spinal kord, beyin sapı ve yüksek kortikal merkezlerin kontrolü altında işleyen, sempatik, parasempatik ve somatik sinirlerin rol aldığı kompleks dinamik bir süreçtir (17).

Dolma fazında mesane komplians özelliği ile ciddi basınç artışı olmaksızın içindeki volüm artışına belli bir kritik noktaya kadar uyum sağlar. Kritik noktaya ulaşıldığında ise otonom ve somatik sinir sistemi aktive olarak detrüsör kontraksiyonları inhibe edilir, üretra kası kasılır. Boşalma fazında ise devamlı ve yeterli mesane kontraksiyonları ile mesane çıkışı ve sfinkter kompleksi gevşer, üretra dilate olur ve düşük dirençle boşalma gerçekleşir (17). Mesanenin dolma ve işeme fazı Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Mesanenin dolma ve işeme fazı

İşeme kontrolünün kazanılması çeşitli gelişim basamaklarını içeren kompleks bir süreçtir ve halen tamamen anlaşılamamıştır. Bu süreç üzerinde anatomik, fizyolojik, psikolojik ve sosyokültürel faktörler rol oynar (18).

Doğum öncesi son trimesterde idrar üretimi doğum sonrası döneme göre oldukça fazladır (30 ml/sa) ve işeme sıklığı da günde yaklaşık 30 kez olacak şekildedir (19). Yenidoğan bir bebekte doğumdan sonraki günlerde işeme sıklığı çok azdır, ilk işeme 12-24 saatte olur. İlk bir haftadan sonra işeme sıklığı hızla artar ve 2-4 haftalıkken ortalama saatte bir kez engellenemeyen detrüsör kontraksiyonları ile işeme gerçekleşir. Süt çocukluğu döneminde sfinkter ve spinal refleks koordinasyonu gelişmeye başlar, işenen miktar artarken işeme sıklığı günde 10-15 kez olacak şekilde azalır. Bir yaşından sonra işeme sıklığı günde 8-10 keze düşer ve işenen idrar miktarı 3-4 kat artar (20).

1-2 yaş arası dönemde mesane doluluğunun bilinçli olarak algılanması, istemli işemenin başlatılması gerçekleşmeye başlar. 2-3 yaş arasında yeterli sfinkter kontrolü ile birlikte işemenin ertelenmesi yetisi kazanılır. Sosyal olarak uygun ortam bulunana kadar işemenin engellenmesi ve uygun ortam bulunduğunda işemenin gerçekleştirilmesi bu dönemde öğrenilir. 3-4 yaşından sonra ise çocukların çoğu erişkin tip işeme paternine sahip olurlar ve hem gündüz hem de gece kuru kalırlar (21).

Bütün bu gelişim süreci içerisinde mesanenin fonksiyonel depolama kapasitesinde artışın olması, eksternal üretral sfinkterin fonksiyonunun olgunlaşması ve üzerindeki kontrolün gelişmesi, mesane-sfinkter ünitesi üzerindeki istemli kontrolün sağlanmasının gerçekleşmesi gereklidir. İşeme kontrolünün gelişim sürecinde davranışsal öğrenme ve tuvalet eğitiminin de etkisi vardır. Bu gelişim süreci çeşitli fonksiyonel işeme bozukluğu tiplerinin oluşumuna açık karmaşık bir süreçtir (21).

2.2. Çocuklarda İdrar Kaçırma

Çocuklarda idrar kaçırma **'sürekli'** veya **'aralıklı' idrar kaçırma** olarak ikiye ayrılır. Sürekli idrar kaçırma anatomik ve nörojenik anomaliler ile ilişkilidir. Aralıklı idrar kaçırma ise beş yaşından büyük çocuklarda gündüz ve/veya gece farklı miktarlarda idrar kaçırma durumudur (22).

Beş yaşından büyük çocuklarda gece uyurken aralıklı idrar kaçırma durumuna **'enürezis-nokturnal inkontinans'** denir (22). Enürezis dışında başka bir semptom olmaması durumuna **'monosemptomatik enürezis'**, enürezise herhangi bir alt üriner sistem (AÜS) semptomu veya mesane disfonksiyonunun eşlik etmesi durumuna ise **'non-monosemptomatik enürezis'** denir (22). Enürezise eşlik eden herhangi bir gündüz semptomu varlığı bu durumu işeme disfonksiyonunun bir biçimi yapar (23).

Çocuklarda idrar kaçırma yakınması anatomik veya nörolojik bir bozukluğa bağlı gelişebilir (Tablo 2.1.). Ancak çoğu hastada idrar kaçırma için belirgin bir neden bulunamaz ve bu durum **'fonksiyonel işeme bozukluğu'** olarak tanımlanır (1).

Tablo 2.1. İdrar kaçırma yakınmasına yol açan anatomik ve nörolojik nedenler

Anatomik nedenler:	***Nörolojik nedenler:***
1. Mesane ekstrofisi	1. eningosel/Miyelomeningosel
2. Epispadias	2. Spina bifida
3. Ektopik üreter ve üreterosel	3. Gergin kord sendromu
4. Posterior üretral valv (PUV)	4. Kaudal regresyon sendromu
5. Prune Belly Sendromu	5. Spinal kord tümörleri
6. Kloaka anomalileri	6. Serebral palsi
7. Travmaya bağlı striktür	7. Dejeneratif SSS bozuklukları
8. Sfinkter veya üretra hasarı	8. Vasküler malformasyonlar

2.3. Fonksiyonel İşeme Bozuklukları

'İşeme bozuklukları' ya da **'fonksiyonel işeme bozuklukları'** altta yatan anatomik ya da nörolojik herhangi bir bozukluk olmadan işlevsel idrar kaçırma problemlerini bir araya toplamak için kullanılan bir terimdir (1). Ancak Uluslararası Çocuk Kontinans Derneği'nin (ICCS) 2006'da AÜS fonksiyonu ve disfonksiyonu ile ilgili tanımlamalarda yaptığı güncellemeler sonucunda 'işeme bozukluğu' terimi geçerliliğini yitirmiştir ve fonksiyonel idrar kaçırma problemlerini genel olarak tanımlamak için **'gündüz görülen alt üriner sistem bozuklukları (GGAÜSB) - *daytime lower urinary tract conditions*'** terimi kullanılmaya başlanmıştır (22). Gündüz görülen AÜS bozuklukları sıkışma, idrar kaçırma, duraksama, kesik kesik idrar yapma, artmış sıklıkta idrar yapma gibi çeşitli AÜS semptomları ve idrar yolu enfeksiyonları ile prezente olan ancak altta belirgin bir üropati veya nöropati bulunmayan durumlardır (24). Gündüz görülen AÜS bozuklukları Tablo 2.2.'de gösterilmiştir.

Tablo 2.2. Gündüz görülen alt üriner sistem bozuklukları

1. Aşırı aktif mesane ve sıkışma inkontinansı
2. Ertelenmiş işeme
3. Aktivitesi azalmış mesane
4. Disfonksiyonel işeme
5. AÜS obstrüksiyonu
6. Stres inkontinansı
7. Vajinal reflü
8. Gülme inkontinansı
9. Beklenmedik şekilde gündüz sık idrar yapma

Gündüz görülen AÜS bozuklukları mesane döngüsüne göre de sınıflandırılmaktadır (Tablo 2.3.) (22).

Tablo 2.3. Gündüz görülen alt üriner sistem bozukluklarının mesane döngüsüne göre sınıflandırılması

Dolma fazı problemleri:
1. Aşırı aktif mesane - Sıkışma sendromu
2. Aktivitesi azalmış veya kompliansı artmış mesane
- Ertelenmiş işeme
- Aktivitesi azalmış mesane
İşeme (Boşaltma) fazı problemleri:
1. Disfonksiyonel işeme

2.4. Patofizyoloji

1. Dolma fazı problemleri:

a. Yetersiz idrar depolama: Mesane kapasitesi yaşa göre düşük olduğunda çocuğun sık idrarı gelir. Mesane aşırı aktif olabilir, dolma fazında istemsiz kontraksiyonlar (detrüsör instabilitesi, aşırı aktif mesane) vardır. Bu iki durum birlikte olabilir (düşük kapasiteli, aşırı aktif mesane). Mesane yüksek basınçla idrar depolayabilir (Kompliansı azalmış-hipokomplian mesane). Bu üç durum beraber olabilir (düşük kapasiteli, aşırı aktif, hipokomplian mesane). Hepsinde aciliyet ile birlikte idrar kaçırma sık görülen bir yakınmadır.

b. Fazla idrar depolama: Çocukta idrar tutma alışkanlığı vardır. İdrar yapmayı erteler. Mesane kapasitesi artar (tembel mesane), idrarı geldiğinde idrarının tamamını boşaltabilir ya da çoğunlukla bir miktar idrar mesanede kalır.

2. İşeme (Boşaltma) fazı problemleri: Hatalı tuvalet pozisyonları ve/veya hatalı tuvalet eğitimi sonrasında pelvik taban kaslarının işeme esnasında kasılmaları

uygunsuz işemeye yol açar. Bu durum için kullanılan genel terim **'disfonksiyonel işeme'**dir.

3. Dolma fazı + işeme (boşaltma) fazı problemleri: Mesane kapasitesi küçüklüğü, aşırı aktif mesane ve yüksek basınçlı depolama nedeniyle sık idrarı gelen çocuk buna defans olarak sfinkteri (pelvik taban kaslarını) sıkmayı öğrenir. Sonuç olarak hipertrofiye uğrayan ve güçlenen pelvik taban kasları miksiyon esnasında yeterince gevşeyemez, mesane içindeki basınç daha da yükselir. Pelvik taban kaslarını sıkmaya alışan çocuğun anal sfinkterini de sıkması kabızlığa yol açar. Kabızlığa bağlı dışkı ile dolu sigmoid kolonun pelviste hacim alması mesanenin depolama fonksiyonunu olumsuz etkiler. Yorulan anal sfinkterin uygunsuz gevşemesi dışkı kaçırılmasına (enkoprezis) neden olabilir.

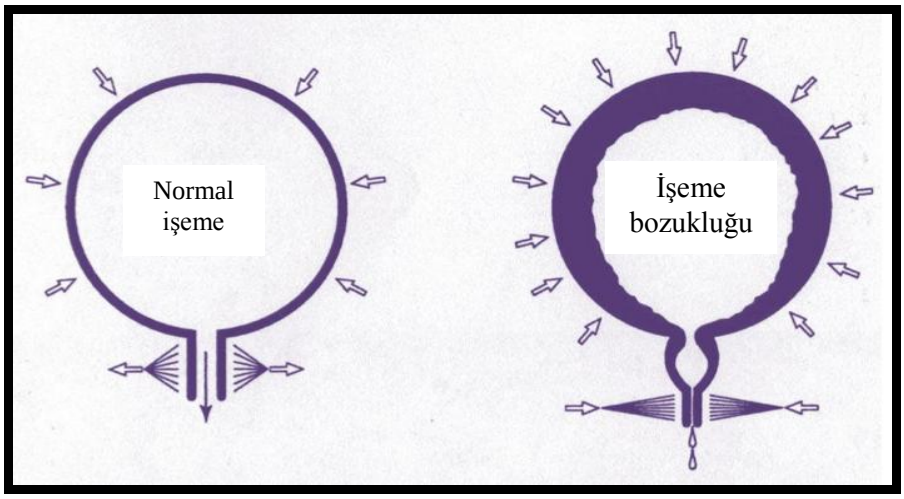
2.5. Gündüz Görülen Alt Üriner Sistem Bozuklukları

'Aşırı aktif mesane' dolma fazında artmış detrüsör aktivitesi ve/veya yaşa göre düşük mesane kapasitesi ve/veya azalmış mesane kompliansı ile karakterize bir durumdur. Genellikle sık sık idrar yapma, ani sıkışma ve sıkışma inkontinansı ile kendini gösterir. İstemsiz mesane kontraksiyonlarına yanıt olarak sfinkterde refleks kasılma meydana gelir (25). Çocuklar bacaklarını çaprazlayarak (Vincent bulgusu) istemli olarak pelvik taban kaslarını kasmaya ve üretraya dışardan baskı uygulamaya çalışırlar (26,27). Buna rağmen sıkışma inkontinansı meydana gelebilir. Ayrıca sürekli pelvik taban kaslarının kasılması kabızlığa yol açar (28).

'İşemenin ertelenmesi' terimi aileleri tarafından idrar yapmayı davranışsal olarak geciktirdikleri ve tutma manevralarını yaptıkları gözlemlenen, gündüz idrar kaçırması olan çocuklar için kullanılmaktadır. Aileler sıklıkla çocuklarının idrar yapmaları gerektiği söylenmedikçe idrar yapmadıklarını, idrarlarını tutma eğiliminde olduklarını belirtirler. Bazı çocuklar sık sık tuvalete gitmemek veya idrar kaçırmamak için az sıvı tüketmeye çalışırlar. Bu hastalarda işeme sıklığı azdır. Tabloya sıklıkla tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonları, kabızlık ve/veya fekal kirlenme de eşlik eder.

‘Aktivitesi azalmış mesane’ terimi ise işemenin başlatılması, devamı veya bitirilmesi için intraabdominal basınç artışına ihtiyaç duyan, işeme sıklığı azalmış çocuklar için kullanılmaya başlanmıştır (22). Bu terim eskiden kullanılan **‘tembel mesane’** teriminin yerini almıştır. Mesane kapasitesi ve komplians artmış, detrüsör kontraktilitesi azalmıştır. İşeme sonrası fazla miktarda rezidüel idrar kalır.

‘Disfonksiyonel işeme’ tuvalet eğitiminin tamamlandığı yaştan itibaren işeme sırasında pelvik taban kaslarının ve eksternal sfinkterin uygunsuz olarak istemli kasılması ile detrüsör ve eksternal sfinkterin uyumlu çalışmaması olarak tanımlanır. Bu terim tekrarlayan üroflovmetrik değerlendirmelerde staccato paterni görülmeden veya ürodinamik inceleme yapılmadan kullanılamaz. Ayrıca herhangi bir AÜS fonksiyon bozukluğunu tanımlamak için bu terimin kullanılması son derece yanıltıcı olacaktır. İşeme sırasında pelvik taban kaslarının gevşemesi gerekirken anormal şekilde kasılması ile intravezikal basınç artar ve mesanenin tam boşaltılamaması sonucu rezidüel idrar kalır. İntravezikal basınç artışı ve rezidüel idrar vezikoüreteral reflüye, üriner staza ve idrar yolu enfeksiyonlarına neden olabilir. Bu durum mesane duvarında inflamatuar değişikliklere yol açarak detrüsör aktivitesini arttırır. Ayrıca sürekli yüksek basınçlı işeme mesane duvarında kalınlaşmaya, trabekülasyon, divertikül oluşumuna ve mesane boynu hipertrofisine neden olur (Şekil 2.2.). Sıklıkla duraksama ve kesik kesik işeme ile kendini gösterir. Ayrıca sıklıkla beraberinde konstipasyon ve lekelenme gibi barsak disfonksiyonu bulguları da eşlik eder.



Şekil 2.2. Disfonksiyonel işeme durumunda mesane ve mesane boynunun şematik görüntüsü

‘Alt üriner sistem obstrüksiyonu’ çocuklarda işeme sırasında idrar akımında mekanik veya fonksiyonel, statik veya fazik bir engel olması durumudur. Detrüsör basıncında artma ve idrar akım hızında azalma ile karakterizedir. Farklı çeşitleri vardır ve videoürodinamik yöntemler ile tanımlanabilir.

‘Stres inkontinansı’ gülme, öksürme, koşma gibi nedenlerle intraabdominal basınç artışı gerçekleştiğinde intravezikal basıncın mesane çıkışı veya üretra rezistansını aşacak düzeye ulaşması sonucu istemsiz az miktarda idrar kaçırma durumudur. Nörolojik olarak normal olan çocuklarda nadirdir. İşemeyi erteleyen ve tuvalete zamanında gitmeyen ve aşırı aktif mesanesi olup detrüsör kontraksiyonları nedeniyle idrar kaçırma durumundan ayırt edilmelidir.

‘Vajinal reflü’ tuvalet eğitimi tamamlanmış prepubertal kız çocuklarında normal işemeden 10 dakika sonra görülen, idrarın vajinaya kaçması dışında belirgin bir neden olmadan orta miktarda idrar kaçırma durumudur. Diğer AÜS semptomları ile beraberlik göstermez.

‘Gülme inkontinansı’ genelde 7-15 yaşındaki kızlarda görülen gülme veya kıkırdama sırasında veya hemen sonrasında aniden ortaya çıkan mesanenin ani boşalması durumudur. Stres inkontinansında görülenden daha büyük miktarlarda idrar kaçırma meydana gelir ve sıklıkla bütün mesane volümü kaybedilir. Patogenezde üriner sfinkterin aniden gevşemesi düşünülmektedir (25).

‘Gündüz beklenmedik şekilde sık idrar yapma’ terimi sadece gündüzleri sık aralarla az az idrar yapma durumu için kullanılmaktadır. Gündüz idrar yapma sıklığı en az saatte bir kezdir ve idrar miktarı mesane kapasitesinin %50’sinden daha azdır. Psikososyal problemler, hiperkalsiüri ve enfeksiyonlar bu tabloya neden olabilir.

‘Disfonksiyonel Eliminasyon Sendromu (DES)’ AÜS bozukluklarına barsak fonksiyon bozukluğu/kabızlığın eşlik etmesi durumudur. İlk kez 1998 yılında Koff ve arkadaşları (29) tarafından tanımlanmıştır. Pelvik taban kaslarının anormal kasılması sonucu işeme bozukluğu ve kabızlık gelişir. Bu hastalarda sıklığı azalmış ve yetersiz işeme, aşırı aktif mesane, kabızlık ve tekrarlayan İYE bulunur (29).

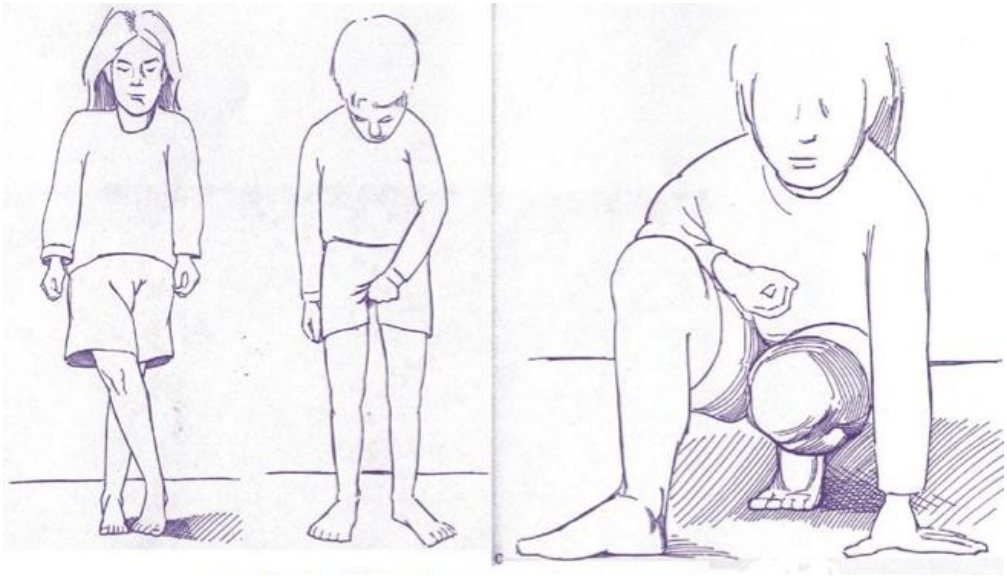
‘Non-nörojenik nörojenik mesane (NNNM)’ spektrumunun en ucunda yer alan, en ağır AÜS bozukluğudur. Şiddetli bir disfonksiyonel işeme tablosu vardır ve nörojenik mesanelerde görülene benzer şekilde hem alt hem de üst üriner sistem etkilenmesi bulunur (2). Ancak bu hastalarda altta yatan nörolojik bir neden bulunmaz. **‘Ürofasial (Ochoa) Sendrom’** ise NNNM’nin erken başlangıçlı ve şiddetli bir formudur. Gülerken ağlayan yüz ifadesi ve belirgin nörolojik hasar veya anatomik mesane çıkış obstrüksiyonu olmaksızın mesanenin tam olarak boşaltılamaması ile karakterize genetik bir hastalıktır.

2.6. Klinik ve Laboratuar Değerlendirme

İşeme bozukluğunun değerlendirilmesindeki amaç hastanın semptomlarını gidermek, kuru kalmasını sağlamak, idrar yolu enfeksiyonlarını engellemek ve üst üriner sistemi korumaktır. Doğru bir değerlendirme ile doğru tanı koymak ve doğru tedavi yöntemini seçmek mümkündür.

Uluslararası Çocuk Kontinans Derneği (ICCS) tarafından 2010 yılında AÜS semptomları olan hastaların tanısal değerlendirmesinde standardizasyon oluşturacak bir rapor yayınlanmıştır (30). Bu rapora göre AÜS semptomları olan hastalarda değerlendirme aileden ve çocuktan birlikte ayrıntılı bir öykü alınmasıyla başlar. Anamnezde hastanın büyüme ve gelişmesi, nörolojik gelişimi, ateşli veya ateşsiz İYE, travma veya operasyon öyküsü sorgulanır. Ardından işeme ile ilgili; şikayetlerin başlama yaşı, aile öyküsü, tuvalet eğitim yaşı, işeme paterni, idrar akımı, miktarı, sıklığı, ani sıkışma, sıkışma inkontinansı, idrar bekletme, damlatma, idrar yapma zorluğu/duraksama, kesik kesik işeme, ıkınarak işeme, yeterli boşaltamama, disüri, gündüz ya da gece idrar kaçırma, idrar kaçırma sıklığı, idrarı tutmaya çalışırken bacakların çaprazlanması ve hafif öne eğilme ile karakterize özel hareket (Vincent bulgusu) (Şekil 2.3.), yere çömelme ile barsak alışkanlıkları (kabızlık, dışkı kaçırma) ve sıvı alımı sorgulanmalıdır. İşeme sıklığının ve miktarının değerlendirilmesi için işeme günlüğü tutulmalıdır.

Günümüzde işeme bozukluğunun objektif değerlendirmesinde, tanı ve tedavi kararında invaziv olmayan kantitatif ölçeklere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle işeme bozukluğuna yönelik semptom skorlamaları geliştirilmiştir. İlk skorlama sistemi 1992'de van Gool (31) tarafından tanımlanmış olup, 2000 yılında Farhat ve arkadaşları (32) erişkinlerde kullanılan 'Prostat Semptom Skorlaması'nı çocuklara uyarlayarak 'Disfonksiyonel İşeme Semptom Skorlaması'nı geliştirmişlerdir. Son olarak 2005 yılında Akbal ve arkadaşları (33) tarafından 'İşeme Bozukluğu Semptom Skorlaması' (İBSS) geliştirilmiştir. Bu skorlama anamnez sırasında kısa sürede ve kolaylıkla uygulanabilen, semptomların kantitatif olarak değerlendirilmesini sağlayan, tedaviye yanıtı nicel olarak ortaya koyan bir yöntemdir.



Şekil 2.3. Disfonksiyonel işemesi olan çocuklarda idrar tutma manevraları

(Vincent bulgusu, penisi tutma ve topuğunu perineye bastırma)

Fizik muayenede gizli nörolojik hastalıkların tanınması önemlidir. Sırt ve lumbo-sakral bölge nevus, lipom, dermal sinüs, kıllanma ve gamze açısından ayrıntılı muayene edilmeli, nörolojik muayene yapılmalıdır. Ürogenital bölge labial yapışıklık, ektopik üreter, meatal stenoz, epispadias, hipospadias ve cinsel istismar bulguları açısından mutlaka ayrıntılı olarak değerlendirilmelidir. Mesane globu ve dolu barsaklar karında kitle görüntüsü verebilir. Yürümenin değerlendirilmesi, alt ekstremitelerin refleksler, kas gücü, simetri ve şekil açısından değerlendirilmesi, anal

sfinkter tonusunun ve bulbokavernöz refleksin mutlaka muayene edilmesi gereklidir (30).

Laboratuar incelemelerinden tam idrar tetkiki, idrar kültürü, böbrek fonksiyon testleri değerlendirilmelidir.

2.7. Radyolojik Değerlendirme

İşeme bozukluğu olan hastalarda üriner sistemin değerlendirilmesinde en değerli yöntem ultrasonografidir. Üriner sistem ultrasonografisi (US) üst ve alt üriner sistemin ayrıntılı olarak noninvaziv bir şekilde değerlendirilmesine olanak sağlar. Ultrasonografi ile böbrek boyutları, parankim kalınlıkları ve ekojeniteleri, pelvis çapları, üreter genişliği, mesane büyüklüğü ve duvar kalınlaşması (>3-4 mm) ile postmiksiyonel rezidü varlığı değerlendirilebilir. İdrar yolu enfeksiyonu öyküsü ve/veya hidroüreteronefroz varlığında miksiyon sisto-üretrografi (MSÜG) ile vezikoüreteral reflü (VÜR), mesane ve üretranın yapısı değerlendirilmeli, dimerkaptosüksinik asit (DMSA) böbrek sintigrafisi ile renal hasar araştırılmalıdır. Nörojenik mesane şüphesinde gizli nörolojik nedenlerin ekarte edilmesi için lumbo-sakral magnetik rezonans görüntüleme (MRG) çekilmelidir.

2.8. Ürodinamik İnceleme Yöntemleri

Ürodinamik incelemeler AÜS işlevinin ve normale göre gösterdiği sapmaların gözlemlenmesine olanak sağlar. Aşağıda belirtilen bazı ürodinamik parametreleri değerlendirmek önemlidir:

- Mesane kapasitesi
- İntravezikal dolma basıncı
- Üreteral kaçırma anında intravezikal basınç
- Refleks detrüsör aktivitesinin varlığı ya da yokluğu
- İnternal ve eksternal sfinkter mekanizmalarının yeterliliği

- Detrüsör ve sfinkter mekanizmalarının koordinasyon derecesi
- İşeme döngüsü
- İşeme sonrası kalan idrar hacmi

1. Üroflovmetri: Tüm ürodinamik testlerin en az invaziv olanıdır. İşeme verimliliğini objektif olarak değerlendirmeyi sağlar ve US ile rezidü idrar hacmi de belirlenebilir. Temel sınırlı yönü, çocuğun yönergelere uyabilecek ve istendiğinde işeyebilecek yaşta olmasını gerektirmesidir. Mesane disfonksiyonu olan hastalarda sıklıkla işeme sonrası rezidüel idrar saptanır.

2. Sistometri: Çocuklarda sistometri orta derecede invaziv ve çocuğun işbirliği yapmasına bağlı olmasına karşın, detrüsör kontraktibilitesi ve kompliansı hakkında değerli bilgiler sağlar. Standart üroterapi tedavisine dirençli AÜS semptomları olan veya NNNM şüphesi olan olgularda ileri video-ürodinamik çalışmalar yapmak gerekebilir. Non-nörojenik nörojenik mesanesi olan olgularda sistometri ile sıklıkla kompliansı azalmış aşırı aktif mesane ile detrüsör-sfinkter uyumsuzluğu saptanır.

2.9. Tedavi

İşeme bozukluğu olan hastalarda tedavinin amacı hastanın düzgün depolayan ve boşalan bir mesaneye sahip olmasını sağlamak, idrar kontinansını ve hastanın yaşam kalitesini iyileştirmek, İYE geçirmesini önlemek ve üst üriner sistemi korumaktır. Tedavi sıklıkla üroterapi olarak adlandırılan AÜS rehabilitasyonundan oluşur.

1. Standart üroterapi: Standart üroterapi AÜS fonksiyon bozukluğunun cerrahi ve farmakolojik olmayan tedavisi olarak tanımlanır (34). İşeme bozukluğu olan çocuk ve ailesi normal AÜS fonksiyonları ve nelerin problem olarak tanımlandığı hakkında bilgilendirilmelidir. Çocuğun tuvalet eğitimi gözden geçirilmeli, doğru işeme pozisyonu anlatılmalıdır. Çocuğa düzenli ve zamanlanmış işeme davranışı öğretilmelidir. Çocuk her iki saatte bir idrar yapmalı ve idrarı geldiğinde işemeyi geciktirmemeli, tutma manevralarından kaçınmalıdır. İkili işeme ile mesanenin tam boşalmasına olanak vermek çok önemlidir. Hastaların yaşam tarzı düzenlenmeli, sıvı

alımının ve lifli gıda tüketiminin önemi anlatılarak kabızlığın engellenmesi sağlanmalıdır.

2. Farmakolojik tedavi:

- Antimuskarinik ajanlar: Detrüsör kasılmaları muskarinik reseptörler aracılığıyla gerçekleşir. Detrüsör kasında en yaygın bulunan reseptörün, beş tip muskarinik reseptörden M_2 alttipi olduğunun gösterilmesine karşın, detrüsör kontraksiyonundan esas sorumlu alttipin M_3 olduğu anlaşılmıştır. Tüm muskarinik reseptörleri benzer şiddette bloke eden seçici olmayan ajanların (oksibutinin gibi) etkinliği kanıtlanmış olmasına karşın uzun süreli kullanımda yüzde kızarıklık, kabızlık, ağız kuruluğu, çarpıntı ve baş ağrısı gibi yan etkileri nedeniyle kullanımları kısıtlanmaktadır. Bu grup ilaçlar detrüsör parasempatik innervasyonunu inhibe eder ve düz kas üzerine direkt antispazmodik etki ile de mesane kontraksiyonlarını inhibe ederler. M_2-M_3 selektif ajanların (tolterodin, trospiyum gibi) uzun yıllardır piyasada mevcut olmasına ve etkinliği ve güvenilirliğinin kanıtlanmasına karşın halen bazı ülkelerde çocuk hastalarda kullanılmasına izin verilmemektedir. M_3 selektif ajanlar (darifenasin, solifenasin) daha yeni ajanlar olup yapılan çalışmalarda benzer etkinlik ve daha az yan etki bildirilmektedir. Sonuç olarak çocuklarda daha iyi tolere edilebilecek bir antikolinerjik tedavi gereksinimi vardır.

- Alfa blokörler: Alfa adrenarjik antagonistler (alfa blokörler) mesane çıkış direncini ve detrüsör kontraksiyonlarını azaltarak mesane kompliansını arttırırlar. Çocuklarda daha güvenilir bir ajan olan doksazosinin verilmesi önerilmektedir.

- İdrar yolu enfeksiyonu tedavisi ve antibiyotik profilaksisi: Tekrarlayan İYE geçiren veya VÜR'ü bulunan hastalara sorun çözülene kadar profilaktik antibiyotik verilmesi önerilmektedir. Non-nörojenik nörojenik mesanesi olan ve temiz aralıklı kateterizasyon (TAK) uygulayan hastaların yarısından çoğunda bakteriüri görülmesine karşın, asemptomatik hastalar tedaviye ihtiyaç göstermezler.

- Kabızlık tedavisi: Diyet tedavisi ile kabızlığı düzelmeyen hastalarda laksatifler, barsak düzenleyiciler kullanılabilir.

3. Temiz aralıklı kateterizasyon (TAK): Temiz aralıklı kateterizasyon kendi kendine veya bir başkasının yardımıyla aralıklı olarak üretral kateter uygulanmasıdır. Yüksek basınçlı iyi boşalamayan mesane, VÜR ve hidroüreteronefroz (Hinman Sendromu) ve rezidüel hacmin fazla olduğu, atoninin geliştiği olgularda mesanenin tam olarak boşaltılması ve mesane içi basıncın düşürülmesi amacıyla kullanılır. Günlük ortalama kateterizasyon sayısı hastanın ihtiyacına göre 4-6 arasında uygulanmaktadır.

4. Özel tedaviler: Fizyoterapi (pelvik taban kas egzersizleri-Kegel), nörostimülasyon (pelvik taban elektrostimülasyonu) ve geribildirim (Biofeedback).

5. Cerrahi tedavi: Antireflü girişimleri, mesane genişletmesi (ogmentasyon), kateterize edilebilir kanalların (Mitrofanoff) oluşturulması.

Medikal tedaviye direnç gösteren detrüsör aşırı aktivitesi ya da küçük kapasite ve zayıf komplians, çoğu zaman mesane genişletme ameliyatının (ogmentasyon) yapılmasını gerektirir. Genellikle barsak (sıklıkla ileum ya da kolon) kullanılarak, bazen de oto-ogmentasyon ile mesane genişletme işlemi gerçekleştirilebilir. Üretral kateterizasyon yapılmasında güçlük çekilen hastalar için karın duvarına açılan kateterize edilebilir kanallar (Mitrofanoff) oluşturulabilir.

2.10. Hinman Sendromu

‘Hinman Sendromu’ üst üriner sistem etkilenmesi olan AÜS bozukluğunun en ağır formudur ve oldukça ciddi morbiditeye neden olmaktadır. Nörolojik bir bozukluk olmamasına karşın nörojenik mesane bulguları vardır, bu nedenle **‘non-nörojenik nörojenik mesane (NNNM)’** olarak da adlandırılır. Bazı hastalar erken çocukluk çağında bulgu verirken, bazıları ergenlik döneminde karşımıza çıkar. Non-nörojenik nörojenik mesane geniş bir spektrumda bulgu verir. Hastaların gündüz ve gece idrar kaçırma, tekrarlayan İYE ve kronik kabızlık yakınmaları olur. Bazı hastalar basit vezikosfinkterik eğitim ile düzelirken, şiddetli formlarında hastalara mesane ogmentasyonu ve böbrek nakli yapılması gerekebilir (35).

İlk kez 1915 yılında Beer (36), nörolojik hastalığı olmadan nörojenik mesane özelliği gösteren olgular bildirmiştir. 1973 yılında Hinman (37) tarafından 14 hastadan oluşan bir seride fonksiyonel nörojenik mesanesi olan çocuklarda psikolojik faktörlerin rol oynadığı; hipnoz, davranışsal tedaviler ve sfinkter eğitimi ile bu hastaların tedavi başarısının oldukça iyi olduğu bildirilmiştir. 1977'de Allen (38), bu çocuklarda mesane ile sfinkter arasında şiddetli bir dissinerji olduğunu göstermiştir. 1995'de ise Ellsworth ve arkadaşları (39) fonksiyonel mesane obstrüksiyonunun cinsel istismarla ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir.

Hinman Sendromu işeme sırasında dış üretra sfinkterinin uygunsuz olarak istemli kasılması ile detrüsör ve eksternal sfinkter uyumsuzluğu sonucu ortaya çıkar. Bu şekilde gelişen fonksiyonel infravezikal obstrüksiyon, mesane kasında yapısal değişikliklere neden olur. Mesane düz kasında hipertrofi, konnektif doku matriksinde değişiklikler ve detrüsör içinde kollajen birikimi ile mesane duvarında kalınlaşma, trabekülasyon ve yüksek intravezikal işeme basıncı oluşur. Böylece mesane kompliansı azalır ve myojenik mesane yetersizliği gelişir. Bu durum gece ve gündüz idrar kaçırma, kesik kesik işeme, işeme sonrası rezidüel idrar oluşumu, tekrarlayan İYE, VÜR ve hidroüreteronefroz gibi sorunlara neden olabilir. Tabloya çoğu zaman kabızlık da eşlik eder. Hinman Sendromu'nda işeme disfonksiyonu sonucu üst üriner sistem ve/veya renal fonksiyonlar etkilenir. Hastalarda renal skar, kronik böbrek yetmezliği ve hipertansiyon gelişebilir. Hinman Sendromu ciddi üriner sistem etkilenmesi olan işeme fonksiyon bozukluğunun en ağır formudur.

Non-nörojenik nörojenik mesane ilk tanımlandığından itibaren tuvalet eğitimi tamamlandıktan sonra ortaya çıkan, nedeni tam olarak belli olmayan edinsel bir patoloji olarak bilinmekteydi. Ancak son yıllarda erken çocukluk döneminde bildirilen olgularla konjenital alttiplerinin de olduğu düşünülmektedir. 1997 yılında Jayanthi ve arkadaşları (14) erken çocukluk döneminde (<30 ay) anatomik veya nörolojik patolojisi bulunmayan, NNNM tanısı almış yedi olgu tanımlamışlardır. Hastaların hepsinde üst üriner sistem etkilenmesi bulunurken, iki hastanın izleminde kronik böbrek yetmezliği geliştiği ve mesane ogmentasyonu yapıldığı bildirilmiştir. Bu olgularla NNNM'nin neonatal dönemde de ortaya çıkabilen bir patoloji olduğu ileri sürülmüştür. Daha sonra 2006'da erken dönemde eliminasyon bozukluğu ve üst

üriner sistem etkilenmesi olan, konvansiyonel tedaviye yanıt vermeyen ve 'NOCOBLIND' (Non-Obstructive COngenital BLadder and INtestinal Dysfunction) olarak tanımlanmış 11 hasta bildirilmiştir (15). Erken çocukluk döneminde bulgu veren NNNM olgularının tanımlanması, bu patolojinin her zaman edinsel olmadığını düşündürmektedir.

Vidal ve arkadaşları (16) yine 2009 yılında tuvalet eğitimi tamamlanmadan önce tanı alan şiddetli mesane disfonksiyonu ve üst üriner sistem etkilenmesi olup nörolojik ve anatomik obstrüktif bir patolojisi olmayan 11 hasta bildirmişlerdir. Beş hastada (grup 1) prenatal şiddetli hidroüreteronefroz saptanmış olup, 14 yıllık median takip süresi sonunda dört hastaya mesane ogmentasyonu yapılmış ve bu hastaların TAK yapma ihtiyacı olduğu görülmüştür. İkinci grupta ise altı hasta, 2-30 aylıkken VÜR (dört hasta) ve/veya hidroüreteronefroz (dört hasta) gibi mesane disfonksiyonunun indirekt bulguları ile prezente olmuştur. Onbir yıllık median takip süresi sonunda üç hastanın TAK uyguladığı, üç hastaya mesane ogmentasyonu yapıldığı, üç hastada kronik böbrek yetmezliği geliştiği ve bunların bir tanesine de böbrek nakli yapılmış olduğu bildirilmiştir. Yazarlar bu bildiride NNNM'nin etyolojiye göre farklı altgruplar halinde tanımlanabileceğini belirtmişlerdir:

1. ***Kazanılmış NNNM:*** Cinsel istismara ikincil (39, 40) veya Hinman'ın tanımladığı sosyopsikolojik bir altyapıda kötü işeme alışkanlığına bağlı gelişmektedir.
2. ***Konjenital NNNM:*** Tek başına ya da bir sendromun parçası olarak tanımlanabilir (Ürofasial sendrom veya Down sendromu (41) gibi). Prenatal dönemde saptanır.
3. ***Erken çocukluk dönemi NNNM'si:*** Bu grubun da konjenital olabileceği düşünülmektedir. Tuvalet eğitiminden önce görülüyor olması altta yatan patofizyolojinin daha önce tanımlananlardan farklı olduğunu düşündürmektedir. Ancak bu grupta henüz tanı konamamış veya henüz tanımlanmamış altta yatan nörolojik bir bozukluk olasılığı dışlanamamıştır.

Non-nörojenik nörojenik mesane tanısı koyarken tüm hastalarda mutlaka obstrüktif üropatilerin dışlanması, ayrıntılı bir nörolojik muayene ve spinal kord MRG ile nörolojik nedenlerin olmadığının gösterilmesi ve vezikosfinkterik dissinerjinin değerlendirilmesi gerekir. Bu aşamada videoürodinamik çalışmalar faydalı

olmaktadır. Ürodinamik çalışmalarda dolma fazında inhibe edilememiş detrüsör aktivitesi ve yüksek mesane basıncı, büyük miktarlarda rezidü ve işeme sırasında pelvik taban kaslarının anormal aktivitesi izlenir. Miksiyon sisto-üretrografide düzensiz şekilli, vertikal boyutu artmış, belirgin trabekülasyon izlenen (‘çam ağacı’ mesane), büyük kapasiteli mesane ve VÜR izlenebilir (Şekil 2.4.).

Tedavide amaç üriner sistemde gelişen hasarın durdurulması ve olabildiğince geri döndürülmesi ile normal işeme mekanizmasının yeniden kazandırılarak üst üriner sistemin olumsuz etkilenmesinin önlenmesidir. Tedavide antibiyotik profilaksisi, antikolinerjik ilaçlar ve kabızlık tedavisi gibi medikal yöntemler uygulanır. Konservatif yöntemlerle sonuç alınamaması durumunda ise TAK, antireflü girişimleri, mesane ogmentasyonu gibi cerrahi yöntemler kullanılmaktadır.



Şekil 2.4. Non-nörojenik nörojenik mesanesi olan H26 numaralı hastamızın MSÜG görüntüsü

2.11. Ürofasial Sendrom (Ochoa Sendromu)

'Ürofasial Sendrom' NNNM'nin erken başlangıçlı ve şiddetli bir formudur. Gülerken ağlayan yüz ifadesi ve belirgin nörolojik hasar veya anatomik mesane çıkış obstrüksiyonu olmaksızın mesanenin tam olarak boşaltılamaması ile karakterize otozomal resesif geçişli nadir bir hastalıktır (3-9).

Alt üriner sistem ve mesane disfonksiyonu ile beraber gülerken ağlayan yüz ifadesi olan hastalar ilk kez 1979 yılında Dr. Rafael Elejalde (10) tarafından "Ürofasial Sendrom" olarak tanımlanmıştır. Hastalık ilk tanımlandığı dönemlerde özellikle Kolombiya'nın kırsal bölgelerinde yaşayan ailelerde izlenen lokal bir hastalık olduğu zannedilmesine rağmen (11), 1989 yılında Orta Doğu'dan, takip eden yıllarda da pek çok farklı ülkeden, özellikle Türkiye ve Pakistan'dan olgular tanımlanmıştır (3-5, 42-45). ÜFS'un insidansı net olarak bilinmemektedir ancak hastalığın ilk tanımlandığı tarihten bugüne kadar <150 hasta bildirilmiştir (12). Kız ve erkek çocuklar eşit oranda etkilenirler.

Doğumdan önce tanı alan çok az sayıda hasta bildirilmiştir. Bu hastalarda fetal megakist ve hidroüreteronefroz görülür (6, 8). Doğumdan sonra tanı alan hastalar sıklıkla erken çocukluk çağında dismorfik mesane ile üreter ve renal pelvis dilatasyonundan oluşan belirgin üriner sistem anomalisi ile bulgu verirler. Ayrıca hastaların gülümserken, gülerken veya ağlarken tipik yüz görüntüsü farkedilir. Şekil 2.5.'de H01 ve H02 numaralı ÜFS'lu olgularımızın yüz görünümü, Şekil 2.6. ve 2.7.'de sırasıyla çalışmalardan ÜFS'u olan hastaların yüz görünümü ve MSÜG görüntüleri gösterilmiştir (5). Hastaların idrar kaçırma ve zayıf akımla idrar yapma yakınmaları vardır. Sıklıkla VÜR bulunur ve tekrarlayan İYE ile ürosepsis tablosu gelişebilir. Hastaların yaklaşık %60'ında kabızlık, %33'ünde dışkı kaçırma yakınması da tabloya eşlik eder (46). İlerleyen dönemde antibiyotik ve antikolinerjik ilaçların kullanımına, aralıklı mesane kateterizasyonu ve üriner sistem cerrahisine rağmen böbrek fonksiyonlarının bozularak son evre kronik böbrek yetmezliği gelişme riski yüksektir (5, 6, 8, 9, 11).

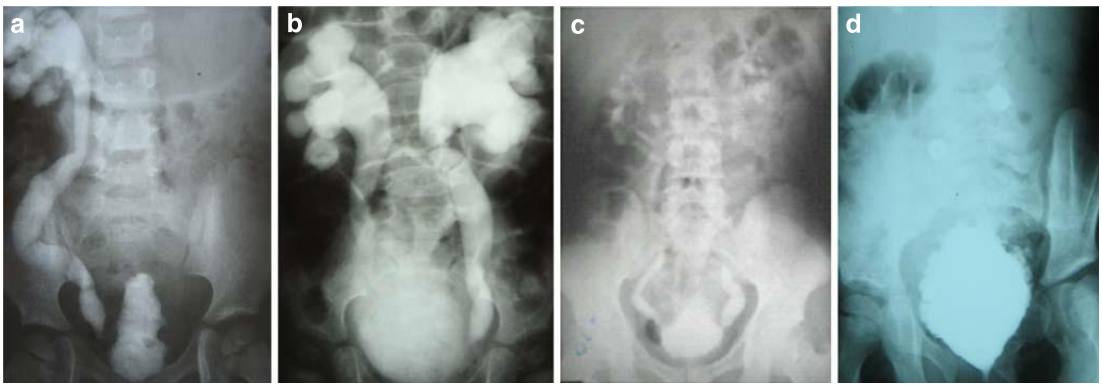


Şekil 2.5. H01 ve H02 numaralı ÜFS'lu olgularımızın yüz görünümü

ÜFS hastalarının ultrasonografik incelemesinde işeme sonrası mesanenin yetersiz boşaldığı ve rezidü idrar kaldığı, hidronefroz veya hidroüreteronefroz gibi bulgular tespit edilir. Sistoskopide üretra lümen obstrüksiyonu yapacak anatomik bir bozukluk olmadığı izlenir. Miksiyon sisto-üretrografide tipik olarak düşük kapasiteli ve trabeküle mesane gözlenir, bazen eşlik eden VÜR görülebilir. Sistometri intravezikal basınç artışını, detrüsör sfinkter dissinerjisini gösterir. Dimerkaptosüksinik asit böbrek sintigrafisi de geçirilmiş İYE'ye bağlı gelişmiş renal parankimde skar varlığını gösterir (47).



Şekil 2.6. Çalışmalardan ÜFS'u olan olguların yüz görünümleri (5)



Şekil 2.7. Çalışmalardan ÜFS'u olan olguların MSÜG görüntüleri (5)

ÜFS'da üriner sistemin etkilenme şiddeti hasta olan tek yumurta ikizi kardeşler arasında bile farklılık göstermektedir. Yine etkilenmiş bireylerde yüz ifadesinde de farklılıklar gözlenmektedir, bazı olgularda etkilenme hafif olabilir. Tipik ÜFS olan bazı hastalar bazen yanlışlıkla 'obstrüktif üropati' tanısı almaktadır. Tipik yüz görünümünün de dikkate alınmamasından dolayı hastalığa tanı koyulamadığından ÜFS hakkında az şey bilinmektedir ve hastalık halen tam tanımlanamamıştır (47).

Dr. Elajelde'nin katkılarıyla 1987 yılında Ochoa ve Gorlin (11) akraba olmayan üç aileden yedi ÜFS'lu hastada otozomal resesif geçişi göstermiştir. Wang ve arkadaşları 1997 yılında Kolombiya'lı aileler üzerinde yaptıkları genetik çalışmalarla ÜFS'dan sorumlu genin 10q23-q24 kromozomunda yer aldığını saptamışlar (48), 2003 yılında ise bu genin 10q23-q24 kromozomunda yer alan 220 kb'lık bir bölgede olduğunu göstermişlerdir (49, 50).

Yıllarca süren genetik çalışmalardan sonra 2010 yılında Daly ve arkadaşları (6) da üçü Türk olan altı ailede *HPSE2* geninde biallelik mutasyon olduğunu göstermişlerdir. Yine aynı dönemlerde Pang ve arkadaşları (7) *HPSE2* geninde fonksiyon kaybına yol açan üç mutasyonu Kolombiya'lı, Amerika'lı ve Fransız dokuz ailedeki tüm ÜFS'lu olgularda saptamışlardır. Takiben iki ÜFS olgusunda biallelik *HPSE2* gen mutasyonu bildirilmiştir (12, 13).

İnsan *HPSE2* cDNA klonlanması ilk kez 2000 yılında McKenzie ve arkadaşları (51) tarafından bildirilmiştir. *HPSE2* geni 12 ekzondan oluşmakta ve üç mRNA kodlamaktadır (51), bunlardan en uzun olanı da 592 aminoasit içeren bir protein olan 'Heparanase 2 (HPA2)'yi kodlamaktadır. HPA2, heparan sülfat proteoglikanlarına (HSPGs) bağlanarak ve ayrıca heparanase 1 ile direkt etkileşerek heparanase 1 enzimatik aktivitesini inhibe eder (52). Heparanase 1 heparan sülfat zincirlerini ayıran endo-β-glukronidaz aktivitesine sahiptir ve HSPGs'na bağlanan büyüme faktörlerinin salınımını ve aktivitesini düzenler (53, 54). Benzer olarak laminin, fibronektin ve kollajen gibi ekstraselüler matriks molekülleri de HSPGs'a bağlanır ve heparanase 1 enzimatik aktivitesi hücreleri destekleyen protein iskeletinin oluşumunu da etkiler. HPA2'nin heparanase 1 aktivitesini inhibe etmesiyle

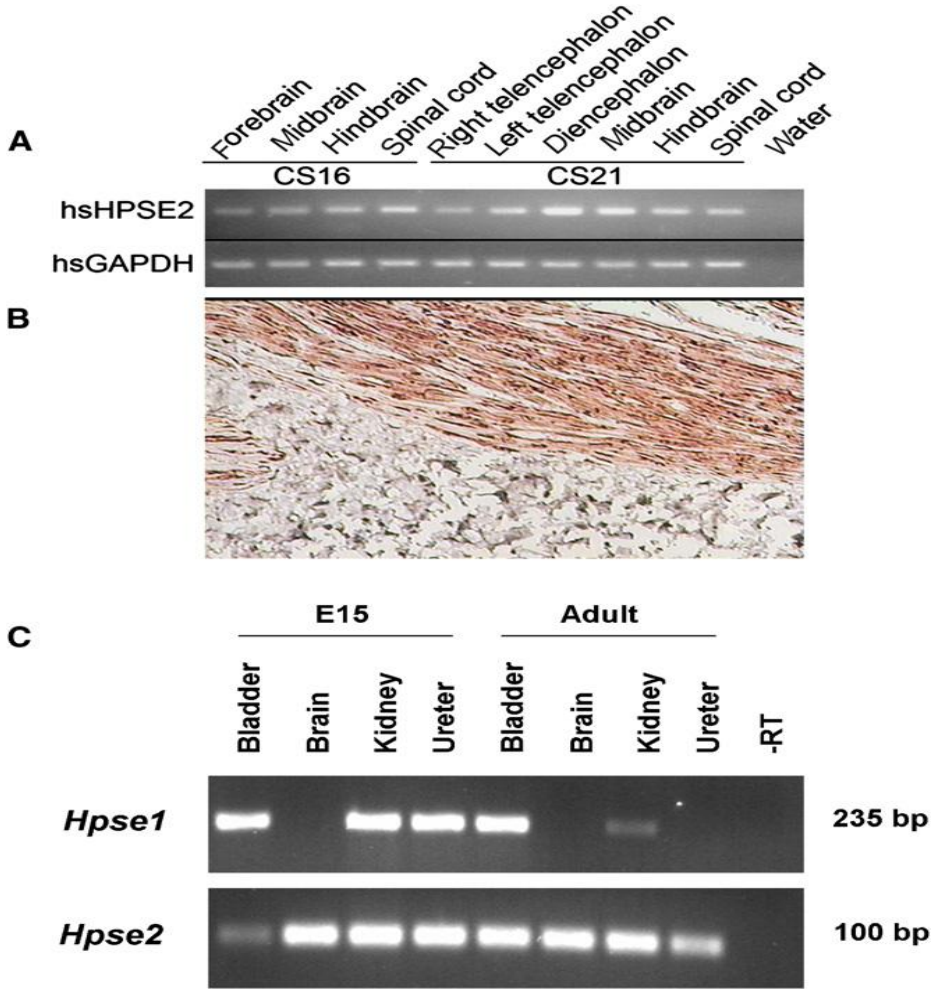
intraselüler fosforilasyon ve transkripsiyon olaylarının düzenlenmesi bozulur, hücre döngüsü ve anjiogenezis değişir (53, 54).

HPSE2 ekspresyonu beyin, barsak, uterus ve plasenta gibi çeşitli organlarda saptanmıştır (51). HPA2 düzeylerinin de baş, boyun, kolorektal kanserleri ve herniye olmuş intervertebral disklerde yüksek olduğu gözlenmiştir (54-56). Ancak HPA2 proteininin ÜFS'lu olgularda nasıl mesane fonksiyon bozukluğuna yol açtığı tam olarak bilinmemektedir. Yapılan çalışmalarda önce *HPSE2* ekspresyonunun fare fetal mesanesinde bulunduğu, daha sonra da ilk trimesterde insan mesanesinde bulunduğu saptanmıştır (6, 8). Ancak ÜFS'lu olgularda hem üriner sistemin hem de yüz kaslarının beraber etkilenmiş olması, bu gendeki mutasyon sonucu santral sinir sisteminde işemeyi ve yüz kaslarını kontrol eden bir bölgenin etkilendiğini düşündürmüştür (9, 57, 58). Şekil 2.8.'de çeşitli dokularda *HPSE2* ekspresyonu gösterilmektedir (6).

HPSE2 gen mutasyonlarının tüm ÜFS'lu hastalarda gösterilememesi genetik heterojeniteyi desteklemektedir. Bu nedenle genetik çalışmalar hızla devam etmiş ve son olarak 2013 yılında Stuart ve arkadaşları (8) tarafından ikisi Türk olan üç ailede *LRIG2* geninde biallelik mutasyon saptanmıştır. *LRIG2* geninin 1p13.2 kromozomunda yer aldığı ve lösinden zengin baz tekrarlarını ve immunglobulin (Ig) benzeri bölge 2'yi kodladığı saptanmıştır (59). *LRIG2* geninin kodladığı LRIG1 proteini, hücre iletişiminde ve tümör oluşumunda rol aldığı gösterilen nöral büyüme faktörünü içermektedir. Normal fetal insan mesanesinde *HPSE2* ekspresyonu gibi *LRIG2* ekspresyonu da gösterilmiştir (8). Ancak HPA2 ve LRIG2 proteinlerinin böbrek parankiminde saptanamamış olması, ÜFS'da böbrek yetmezliğinin AÜS bozukluğuna ve/veya tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonlarına bağlı geliştiğini düşündürmektedir (47).

HPSE2 veya *LRIG2* mutasyonlarının yol açtığı ÜFS olguları arasında fenotipik bir fark saptanmadığı bildirilmiştir (8). Ancak '*Online Mendelian Inheritance in Man* (OMIM)' *HPSE2* mutasyonlarıyla ilişkili olan ÜFS'u **'ÜFS1'** (MIM 236730) ve *LRIG2* mutasyonlarıyla ilişkili olan ÜFS'u **'ÜFS2'** (MIM 615112) olarak tanımlamıştır (60). Araştırılan olguların bir kısmında *HPSE2* veya *LRIG2*

mutasyonlarının saptanmış olması ancak halen mutasyon saptanamamış olguların da olması nedeniyle en azından başka bir ÜFS geni daha bulabilmek için genetik çalışmaların devam ettiği bildirilmektedir (47).



Şekil 2.8. İnsan ve fare dokularında *HPSE2* ekspresyonu (6)

(A) RT-PCR ile 6 ve 8 haftalık insan embriyolarında gelişmekte olan ön beyin, telensefalon, diensefalon, orta beyin, arka beyin ve spinal kordda *HPSE2* ekspresyonunu göstermektedir.

(B) RT-PCR ile insan mesane dokusu içinde *HPSE2* mRNA ekspresyonunu göstermektedir. Koyu kahverengi boyanma longitudinal düz kas dokusu içindeki ekspresyonu göstermektedir (61).

(C) RT-PCR ile E15 ve erişkin farede mesane, beyin, böbrek ve üreterde *HPSE2* ekspresyonunu göstermektedir (62). E15'de farenin mesane, böbrek ve üreterinde *HPSE1* ekspresyonu pozitif, beyinde ise negatiftir. Erişkin fare dokularında ise *HPSE1* mesanede eksprese olmakta, ancak beyinde eksprese olmamaktadır. Erişkin fare böbreğinde *HPSE1* ekspresyonu çok zayıf pozitif, üreter ise negatiftir.

RT-PCR: Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Nefroloji B.D. ve Çocuk Genetik Hastalıkları B.D. tarafından yürütülmüştür.

3.1. Çalışma Grubunun Seçimi

Çalışma grubunu Nisan 2012-Nisan 2013 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Nefrolojisi non-nörojenik nörojenik mesane, Ürofasial Sendrom ve ağır alt üriner sistem disfonksiyonu (AÜSD) tanıları ile izlenen hastalar oluşturmuştur.

Her hasta için demografik bilgileri, hastalıkla ilgili klinik ve laboratuar bulguları ile radyolojik görüntüleme ve ürodinamik değerlendirme sonuçlarının yer aldığı bir form doldurulmuştur (Ek 1). Proje için geliştirilmiş ve Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanan (Tarih: 14.03.2011, No: 26-513) bilgilendirilmiş onam formları hastaların kendisi ve/veya ebeveynleri tarafından imzalanmıştır.

3.2. Laboratuar İncelemeleri

Hastaların periferik bir veninden elde edilen kan örnekleri Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Genetik Hastalıkları Bilim Dalı Laboratuarı'nda fenol kloroform yöntemiyle DNA elde etmek için kullanılmıştır. Bu çalışmada mutasyon tarama yöntemi olarak Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)-DNA dizi analizi tekniği kullanılmıştır. Elde edilen DNA örneklerinde *HPSE2* geninin kodlayan 12 ekzonu ve intron-ekzon bileşkeleri Tablo 3.1.'de gösterilen uygun primerler kullanılarak bir PZR cihazında çoğaltılmıştır. PZR ürünleri, "well-red" boyası ile işaretlenecekleri

"dizileme döngüsü (cycle sequencing)" reaksiyonlarından sonra Beckman-Coulter CEQ2000XL otomatize edilmiş dizi analizi cihazında doğrudan dizi analizi işlemine sokulmuştur.

3.2.1. DNA İzolasyonu

Çalışma grubunu oluşturan olgulardan 1 ml 0,5 M Etilendiamintetraasetikasitli (EDTA) (Sigma, ABD) prolietilen tüp içerisine 9 ml kan örneği alınmıştır. Alınan kan örneği falkon tüpü (50 ml) içerisinde 25 ml kırmızı küre parçalayıcı solüsyonu [155 mM Amonyum Klorid (AppliChem, Almanya); 10 mM Sodyum Bikarbonat (Merck, Almanya); 0,5 mM EDTA (AppliChem, Almanya)] ile çalkalanmış, 20 dk buzda bekletilmiştir. Daha sonra +4 °C'de 4000 rpm'de 20 dk santrifüj (Hettich, Almanya) edilerek süpernatant dökülmüş, pellet üzerine tekrar 25 ml RBC lizis solüsyonu eklenmiştir. Bu işlem tüm eritrositler giderilene kadar tekrarlanmıştır. Son kez süpernatant döküldükten sonra dipte kalan lökositler üzerine 1000 µl RBC lizis solüsyonu eklenmiş, bu karışımın 800 µl'si ependorf tüpüne alınarak -20°C stok olarak saklanmıştır. Geriye kalan 200 µl'lik karışım başka bir ependorf tüpüne alınarak üzerine 20 µg/ml olacak şekilde Proteinaz K enzimi (MBI Fermentas, Litvanya), son konsantrasyon %0,5 olacak şekilde %10'luk Sodyum Dodesil Sülfat (Merck, Almanya) ve lökosit hacminin 2,5 katı olacak şekilde nükleaz solüsyonu [10 mM Trisklorid (Amresco, ABD) pH:8; 100 mM Sodyum Klorid (Merck, Almanya), l mM EDTA (AppliChem, Almanya) pH:8] eklenerek bir gece 56°C'de sıcak su banyosunda (Kotterman, Almanya) bekletilmiştir. İkinci gün 1:1 oranında Fenol/Kloroform [Fenol (Merck, Almanya), Kloroform (Merck, Almanya), İzoamilalkol (Merck, Almanya)] eklenerek 10 dk çalkalanmış, buz içerisinde 20 dk bekletildikten sonra +4°C 4000 rpm'de 20 dk santrifüj edilmiştir. İki faza ayrılan karışımın üst kısmı başka bir ependorf tüpüne alınarak üzerine toplam hacmin 1/10'u kadar 3 M Sodyum Asetat (Sigma, ABD) ve toplam hacmin 2 katı kadar %95'lik alkol (Tekel, Türkiye) eklenmiştir. Ependorf tüpü alt-üst edilerek DNA görünür hale getirildikten sonra -20°C'de bir gece bekletilmiştir. Üçüncü gün +4°C 4000 rpm'de 20 dk santrifüj edilerek DNA çöktürülmüştür. Süpernatant kısmı dökülerek tüpe 500

µl %70’lik alkol eklenmiş ve +4°C 4000 rpm'de 20 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda alkol dökülmüş ve tüp kurumaya bırakılmıştır. Kurutulduktan sonra tüp içerisine Tris-EDTA (10 mM TrisHCl, l mM EDTA) solüsyonu eklenip 37°C’de bir gece bekletilerek DNA'nın çözülmesi sağlanmıştır. İzole edilen DNA +4°C'de saklanmıştır.

3.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Bu çalışmada *HPSE2* geninin tüm ekzonları (12 ekzon) uygun primer çiftleri kullanılarak PZR tekniği ile çoğaltılmıştır. Yapılan PZR'de 100 ng genomik DNA ve 20 pmol primer çiftleri kullanılmıştır. Diğer PZR bileşenleri; 10 mM Tris-HCl (25°C pH:8.8), 50 mM KCI, son konsantrasyonu 2 mM olacak şekilde deoksinükleotittrifosfatlar [dATG, dGTP, dCTP, dTTP (Fermentas, Litvanya)], 1 ünite Taq DNA polimeraz (Fermentas, Litvanya) ve 15 mM MgCl2'dür. Toplam hacim 25 µl'ye dH20 ile tamamlanarak PZR gerçekleştirilmiştir. Primerler tabloda belirtilmiştir. (Tablo 3.1.).

Polimeraz zincir reaksiyonu sıcaklık şartları; 95°C 10 dk, bunu izleyen 35 siklusta 94°C’de 1 dk, 60°C’de 1 dk, 72°C’de 1 dk ve 72°C’de 7 dk olarak PCR cihazında gerçekleştirilmiştir (Primus, ABD).

Tablo 3.1. *HPSE2* geni mutasyon analizinde kullanılan primerler

HPSE2 1 F: 5 ' cactagcgagacccagtagga 3'
HPSE2 1 R: 5' ggcttgaggggtgttacta 3'
HPSE2 2 F: 5' gccctcagggagtaggaaga 3'
HPSE2 2 R: 5' cttccgctccccaaataaa 3'
HPSE2 3 F: 5' ggagttggagagccttctga 3'
HPSE2 3 R: 5' cagacagatgtgtaccccaaaa 3'
HPSE2 4 F: 5' agtgggaagctcatagaaagg 3'
HPSE2 4 R: 5' ttctgggccagggtactaga 3'
HPSE2 5 F: 5' aaaggcagagagatctgtgga 3'
HPSE2 5 R: 5' gggtgaagccactatggaaa 3'
HPSE2 6 F: 5' tcagtttatttccttttgatttaggg 3'
HPSE2 6 R: 5' ttttcctggaggatgaagga 3'
HPSE2 7 F: 5' gcaacagagaccttgggcta 3'
HPSE2 7 R: 5' tgggactttgtgtctttttcc 3'
HPSE2 8 F: 5' cccctgaaaacaggaaatca 3'
HPSE2 8 R: 5' gcagaataatcagcaacacca 3'
HPSE2 9 F: 5' ttggtgactggagattggtg 3'
HPSE2 9 R: 5' tggaacaaggcatgatcaaa 3'
HPSE2 10 F: 5' agtgatttctggcccgtgt 3'
HPSE2 10 R: 5' ggtgattccagaggcaaaaa 3'
HPSE2 11 F: 5' tagggtctatggtggccaag 3'
HPSE2 11 R: 5' cctactccatcccactgagc 3'
HPSE2 12 F: 5' tgtcagctgtgtgtgtgtatcag 3'
HPSE2 12 R: 5' ggctggttgctaggatgtct 3'
HPSE2 12b F: 5' cttcaccatgcttcctggtt 3'
HPSE2 12b R: 5' gcacagtcaaacacgagttca 3'

3.2.5. DNA Dizi Analizi

Bu çalışmada nükleotid dizisinin belirlenmesi için Sanger'in enzimatik yöntemi esasına dayalı, tam otomatik kapiller sistemli çalışan bir DNA dizi analizi cihazı kullanılmıştır (CEQ2000XL, Beckman Coulter, ABD).

PZR ürünleri, pürifikasyon işlemiyle saflaştırılmıştır. Saflaştırılan PZR ürünleri floresan işaretli dideoksinükleotidler ile işaretlenmesi için yeni bir PZR döngüsüne sokulmuştur. Bu işlem sırasında, 'well red' floresans boyalı dideoksinükleotidler ve DNA polimeraz enzimi içeren Dye terminator Cycle Squencing Kit (Beckman Coulter, ABD) kullanılmıştır.

PZR bileşenleri; 12 µl premiks (her örnek için 2 µl 10X reaksiyon tamponu, l µl dNTP karışımı, 2 µl ddUTP, ddGTP, ddCTP, ddATP ve 1 µl polimeraz enzimi), 0,5-6 µl pürifiye edilmiş PZR ürünü ve reaksiyonun tek iplikçikten yürümesi için primer çiftinin birinden 2 µl (l,6 µM)'dir. Son hacim dH20 ile 20 µl'ye tamamlanarak PZR işlemi gerçekleştirilmiştir.

PZR sıcaklık koşulları 95°C'de 1 dk denatürasyonu takiben 30 döngü 96°C'de 20s, 50°C'de 20 s, 60°C'de 4 dk olarak gerçekleştirilmiştir. Bu işlem sonrası reaksiyonun sonlandırılması için ömeklere 2 µl NaOAc (1,5 M), 2 µl EDTA (50 mM), 1 µl glikojen (20 mg/ml) ile hazırlanan durdurma solüsyonu eklenmiştir. Bu işlemden sonra örnekler üzerine 60 µl %95'lik soğuk etanaol eklenerek +4°C'de, l4000 rpm'de 2 dk santrifüj edilmiştir (Micromax RF, ABD). Üst kısım dökülerek 200 µl %70'lik soğuk etanol eklenmiş, +4°C'de, 14000 rpm'de 2 dk santrifüj edilmiştir. Bu işlem iki kez gerçekleştirildikten sonra örnekler liyofilizatör (Christ, Almanya) cihazında yüksek vakum altında 45 dk kurutulmuştur. Kurutulduktan sonra örnekler 40 µl formamid ile çözülerek DNA dizi analizi cihazına yüklenmiştir. Elde edilen sonuçlar CEQ Sequencing Software programı kullanılarak dalgalar halinde görünür hale getirilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışma grubunu 33 farklı aileden gelen 35 hasta (20 erkek, 15 kız) oluşturdu. Yirmibir hasta NNNM, yedi hasta ÜFS ve yedi hasta ciddi alt üriner sistem disfonksiyonu (AÜSD) (VÜR ve beraberinde ağır mesane bozukluğu olan bulguları) tanıları ile izlenen hastalardı.

Hastaların çalışma sırasında ortalama yaşları 10±4.8 (0.4-18.4) yaştı.

Yirmi (%57) hastanın anne-babası arasında akrabalık vardı. Yirmi hastanın (%61) ailesinde 29 bireyde böbrek hastalığı olduğu, dokuz hastanın (%27) ailesinde 10 kişinin diyaliz tedavisi görmüş olduğu saptandı.

H02 numaralı ÜFS'lu hastamızın erkek kardeşinde ÜFS'un tipik yüz görünümünün olduğu ancak herhangi bir üriner sistem bulgusunun olmadığı, üriner sistem US ve üroflovmetri incelemesinin normal olduğu saptandı.

Hastaların yakınmalarının ortalama başlama zamanı 2.4±2.4 (0.1-8.5) yaş olup, ortalama tanı alma yaşları 4.7±3.7 (0.2-13.4) yaş olarak bulundu. ÜFS'lu beş (%71) hasta, NNNM'li beş (%24) hasta, AÜSD olan üç (%43) hastanın erken çocukluk döneminde (<30 ay) tanı aldıkları saptandı.

Hastaların ilk başvuru yakınmaları 20 (%57) hastada idrar yolu enfeksiyonu bulguları, 15 (%43) hastada gündüz ve gece idrar kaçırma olarak saptandı.

Çalışma sırasında 16 (%46) hastada kronik böbrek hastalığı ve altı (%17) hastada son dönem böbrek yetmezliği vardı. Son dönem böbrek yetmezliği gelişmiş olan hastaların biri ÜFS'u olan, diğerleri NNNM'si olan hastalardı. NNNM'li dört (%11) hastaya daha önce böbrek nakli yapılmıştı.

Hastaların alt gruplara göre demografik ve klinik bulguları Tablo 4.1.'de gösterilmiştir.

Yapılan radyolojik değerlendirmeler sonucunda MSÜG ile 31 (%89) hastada VÜR saptandı. Bu hastaların 15'inde (%43) vezikoüreteral reflü bilateraldi. DMSA böbrek sintigrafisi ile 15 (%43) hastada her iki böbrekte de skar izlenirken, 16 (%46) hastada tek böbrekte skar saptandı. Üç (%9) hastada ise böbrekler normal olarak saptandı.

Tablo 4.1. Hastaların alt gruplara göre demografik ve klinik özellikleri

	NNNM n:21 (%)	**ÜFS n:7 (%)**	**AÜSD n:7 (%)**
Hastalık başlangıç yaşı Ort. yaş±SD (min.-max.)	2.5±2.6 (0.1-8.5)	2.0±2.2 (0.3-5.5)	2.4±2.3 (0.1-6)
Tanı yaşı Ort. yaş±SD (min.-max.)	5.5±3.6 (0.3-13.4)	2.3±2.0 (0.3-6)	4.7±4.4 (0.2-10)
Başvuru yakınması			
İYE	11 (52)	6 (86)	3 (43)
İşeme bozukluğu	10 (48)	1 (14)	4 (57)
Anne-baba akrabalığı	9 (43)	7 (100)	4 (57)
Kronik Böbrek Hastalığı			
Prediyaliz	5 (24)		1 (14)
Diyaliz	5 (24)	1 (14)	
Nakil	4 (19)		

Yirmibeş (%71) hasta TAK yapmaktaydı. Yirmidört (%69) hastaya cerrahi tedavi uygulanmış olduğu saptandı. Oniki (%34) hastaya subüreterik enjeksiyon (SE), 13 (%37) hastaya üreteroneosistostomi (UNC), yedi (%20) hastaya mesane ogmentasyonu yapıldığı, dört (%11) hastaya mitrofanoff oluşturulmuş olduğu görüldü. Hastalara uygulanan tedaviler Tablo 4.2.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Hastaların alt gruplarına göre uygulanan tedavi yöntemleri

	NNNM n:21 (%)	**ÜFS n:7 (%)**	**AÜSD n:7 (%)**
TAK	18 (86)	7 (100)	0
İlaç			
Antikolinerjik	14 (67)	4 (57)	
Alfa blokör	6 (29)		
Antibiyotik koruması	13 (62)	7 (100)	7 (100)
Subüreterik enjeksiyon (SE)	6 (29)	3 (43)	3 (43)
Üreteroneosistostomi (UNC)	7 (33)	4 (57)	2 (29)
Ogmentasyon	4 (19)	3 (43)	0
Mitrofannoff	3 (14)	1 (14)	0

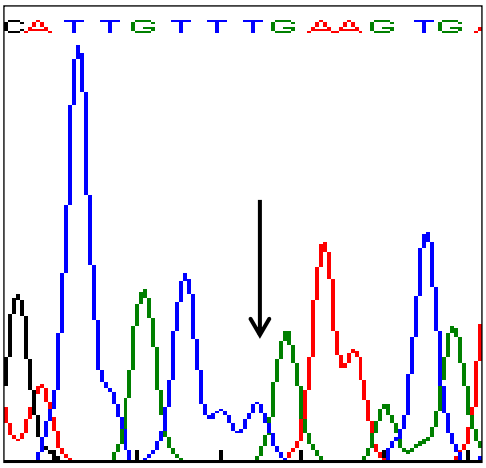
Bu çalışmada yapılan genetik incelemeler sonucunda bir ailede c.457C>T (p.R153X) anlamsız mutasyonu (nonsense), üç ailede c.631T>C (p.Y211H) (rs147866530) değişimi ve 18 ailede de c.1736A>T (p.Y579F) (rs10883100) değişimi saptanmıştır. Şekil 4.1.'de saptanmış olan gen değişimleri, Tablo 4.3.'de *HPSE2* gen değişimi saptanan hastalar ve gen değişimleri gösterilmiştir.

Dizi analizi sonucunda 3. eksonda homozigot olarak gösterilen c.457C>T (p.R153X) anlamsız (nonsense) mutasyonu H04 numaralı ailenin etkilenmiş bireylerinde (ÜFS tanılarıyla izlenen tek yumurta ikizi iki erkek kardeşte) saptanmıştır. Kardeşlerden biri dokuz aylıkken ÜFS tanısı alan, bilateral hidroüreteronefroz ve böbrek parankimlerinde incelme olan, MSÜG ile sağda grade 4 VÜR, videoürodinami ile yüksek basınçlı, hipokomplian, elonge ve trabeküle mesane saptanmış olan bir hastaydı. Hastaya önce subüreterik enjeksiyon, ardından UNC ve mesane ogmentasyonu yapılmıştı ve hasta TAK yapmaktaydı. Diğer kardeş ise 18 aylıkken ÜFS tanısı alan, bilateral hidroüreteronefroz ve sol böbrek parankiminde incelme olan, MSÜG ile sağda grade 3, solda grade 4 VÜR, videoürodinami ile yüksek basınçlı, hipokomplian, elonge ve trabeküle mesane saptanmış olan bir hastaydı. Hastaya subüreterik enjeksiyon uygulanmıştı ve hasta TAK yapmaktaydı. İki hastada da homozigot olarak gösterilen gen değişimi; 457. pozisyondaki sitozinin (C) timine (T) değişerek, proteinin 153. kodonundaki arjinin aminoasidinin (R) dur kodonuna (X) değişmesine neden olmaktadır.

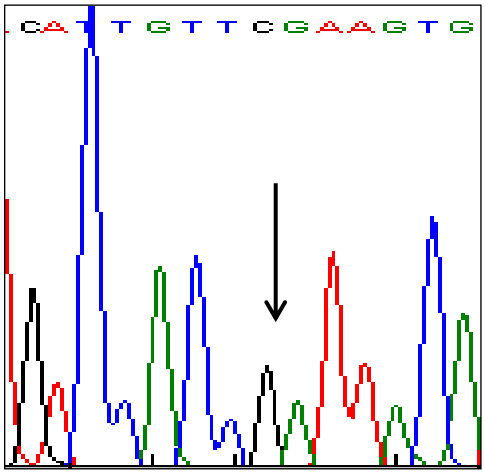
c.631T>C (p.Y211H) (rs147866530) değişimi H02 ve H21 numaralı ailelerde etkilenmiş bireylerde heterozigot ve H33 numaralı ailenin etkilenmiş bir bireyinde ise homozigot olarak gösterilmiştir. Dördüncü eksonda gösterilen bu değişim 631. pozisyondaki timinin (T) sitozine (C) değişerek, proteinin 211. kodonundaki tirozin aminoasidinin (Y) histidin aminoasidine (H) değişmesine neden olmaktadır.

Çalışmada ayrıca toplam 33 ailenin 12'sinde homozigot olarak, altısında heterozigot olarak c.1736A>T (p.Y579F) (rs10883100) değişimi gösterilmiştir. Bu değişim proteinin 579. kodonundaki tirozin aminoasidinin (Y) fenilalanin aminoasidine (F) değişmesine neden olmaktadır.

Tablo 4.4.'de çalışma grubunu oluşturan tüm hastaların klinik ve laboratuar verileri gösterilmiştir.

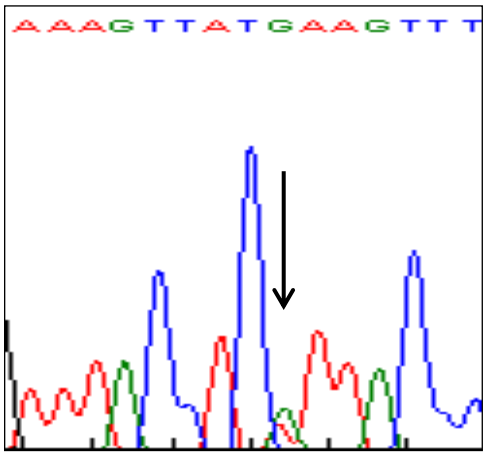


c.457C>T (p.R153X)
Homozigot (3. ekson)

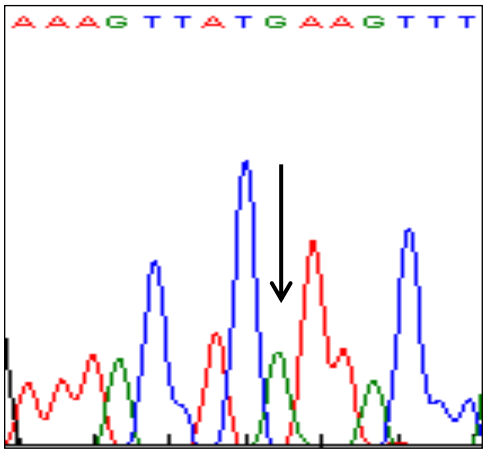


c.457C>T (p.R153X)
Yaban tip (3. ekson)

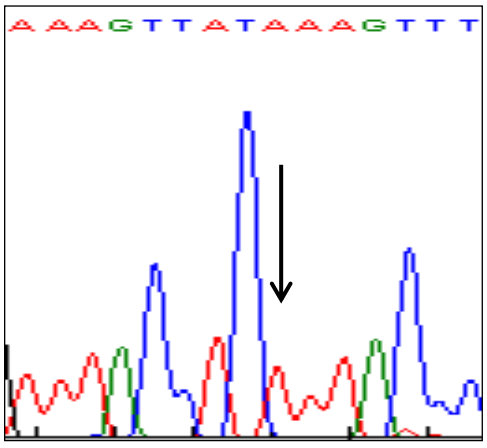
a. *HPSE2* geninin 3. eksonundaki c.457C>T (p.R153X) değişiminin düz primerler kullanılarak oluşturulan homozigot mutant ve yaban tip DNA dizi analizi görüntüsü.



c.631T>C (p.Y211H)
Heterozigot (4. ekson)

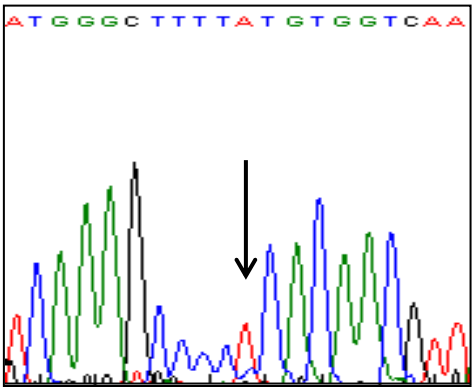


c.631T>C (p.Y211H)
Homozigot (4. ekson)

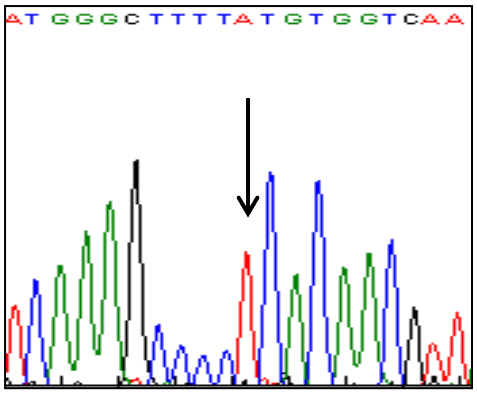


c.631T>C (p.Y211H)
Yaban tip (4. ekson)

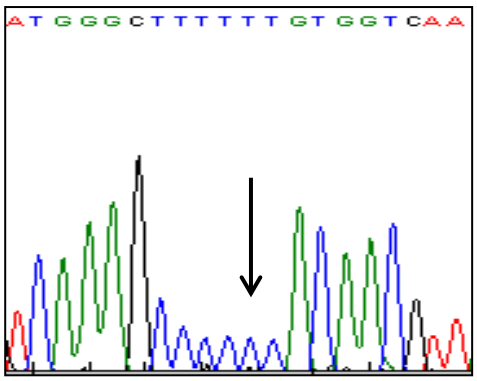
b. *HPSE2* geninin 4. eksonundaki c.631T>C (p.Y211H) değişiminin ters primerler kullanılarak oluşturulan homozigot mutant, heterozigot ve yaban tip DNA dizi analizi görüntüsü.



c.1736 A>T (p.Y579F)
Heterozigot (12. ekson)



c.1736 A>T (p.Y579F)
Homozigot (12. ekson)



c.1736 A>T (p.Y579F)
Yaban tip (12. ekson)

c. HPSE2 geninin 12. eksonundaki c.1736 A>T (p.Y579F) değişiminin düz primerler kullanılarak oluşturulan homozigot mutant, heterozigot ve yaban tip DNA dizi analizi görüntüsü.

Şekil 4.1. Saptanmış olan gen değişimleri

Tablo 4.3. *HPSE2* gen değişimi saptanan hastalar ve gen değişimleri

Aile No	Hasta No	Tanı	Nükleotid değişikliği	Ekson	Aminoasit değişikliği
H04	1 ve 2	ÜFS	Homozigot c.457C>T	3	p.R153X
H33		AÜSD	Homozigot c.631T>C	4	p.Y211H
H02		ÜFS	Heterozigot c.631T>C	4	p.Y211H
H21		NNNM	Heterozigot c.631T>C	4	p.Y211H
H05	1	ÜFS	Homozigot c.1736A>T	12	p.Y579F
H07		NNNM	Homozigot c.1736A>T	12	p.Y579F
H09		NNNM	Homozigot c.1736A>T	12	p.Y579F
H14		NNNM	Homozigot c.1736A>T	12	p.Y579F
H15		NNNM	Homozigot c.1736A>T	12	p.Y579F
H20		NNNM	Homozigot c.1736A>T	12	p.Y579F
H22		NNNM	Homozigot c.1736A>T	12	p.Y579F
H23		NNNM	Homozigot c.1736A>T	12	p.Y579F
H26		NNNM	Homozigot c.1736A>T	12	p.Y579F
H27		AÜSD	Homozigot c.1736A>T	12	p.Y579F
H31		AÜSD	Homozigot c.1736A>T	12	p.Y579F
H33		AÜSD	Homozigot c.1736A>T	12	p.Y579F
H06		NNNM	Heterozigot c.1736A>T	12	p.Y579F
H08		NNNM	Heterozigot c.1736A>T	12	p.Y579F
H10		NNNM	Heterozigot c.1736A>T	12	p.Y579F
H19		NNNM	Heterozigot c.1736A>T	12	p.Y579F
H21		NNNM	Heterozigot c.1736A>T	12	p.Y579F
H32		AÜSD	Heterozigot c.1736A>T	12	p.Y579F

Tablo 4.4. Çalışma grubunu oluşturan hastaların klinik ve laboratuar verileri

Aile – Hasta No	Cinsiyet	Yaş	Tanı	Tanı yaşı	USG	MSUG	DMSA	Video-ürodinami	Cerrahi	Tedavi	Böbrek yetmezliği	Son kreatinin (mg/dl)	Gen değişimi
H01	K	8.8	ÜFS	1.5	Bilateral HÜN, rezidü idrar	Sağ grade 5 VÜR Sol grade 4 VÜR	Bilateral skar	Yüksek basınçlı hipokomplian mesane	Bilateral UNC	TAK Koruyucu ab. Antikolinerjik	Yok	0.8	-
H02	K	8.5	ÜFS	5	Bilateral böbrek parankimi ince, ekojenitesi artmış, bilateral HÜN	Bilateral grade 4 VÜR	Bilateral skar	Yüksek basınçlı hipokomplian mesane	Bilateral SE Ogmentasyon Mitrofannof	TAK Koruyucu ab. Antikolinerjik	Diyaliz	3.5	+
H03	K	9.9	ÜFS	0.3	Bilateral böbrek parankimi ince, ekojenitesi artmış, bilateral HN	Bilateral grade 4 VÜR	Bilateral skar		Bilateral UNC	TAK Koruyucu ab. Antikolinerjik	Yok	0.8	-
H04-1	E	4.3	ÜFS	1.5	Sol böbrek parankimi ince, bilateral HÜN	Sağ grade 3 VÜR Sol grade 4 VÜR	Solda skar	Yüksek basınçlı, hipokomplian, elonge, trabeküle mesane	Bilateral SE	TAK Koruyucu ab. Antikolinerjik	Yok	0.4	+
H04-2	E	4.3	ÜFS	0.8	Bilateral böbrek parankimi ince, bilateral HÜN	Sağ grade 4 VÜR	Bilateral skar	Yüksek basınçlı, hipokomplian, elonge, trabeküle mesane	Bilateral SE Bilateral UNC Ogmentasyon	TAK Koruyucu ab.	Yok	0.7	+
H05-1	K	8.8	ÜFS	4	Sağ HÜN	Bilateral grade 5 VÜR	Sağda skar	Hipokomplian, aşırı aktif mesane	Sol nefrektomi	TAK Koruyucu ab.	Yok	0.5	+
H05-2	K	5.4	ÜFS	2	Sol HÜN	Sol grade 5 VÜR	Solda skar	Hipokomplian, aşırı aktif mesane	Sol UNC Ogmentasyon	TAK Koruyucu ab.	Yok	0.3	-
H06	E	13	NNNM	9	Bilateral böbrek hipoplazik ve ekojenitesi artmış, sol HN	Sol grade 5 VÜR	Bilateral skar	Elonge mesane	Sol SE	TAK Koruyucu ab. Antikolinerjik	Transplantasyon	1.4	+

H07	E	8.3	NNNM	6	Bilateral hipoplazik ve ekojenitesi artmış böbrek, bilateral HN	Bilateral grade 4 VÜR	Sağda skar ve hipoplazi	Elonge, trabeküle mesane	Bilateral UNC	TAK Antikolinerjik Alfa blokör	Yok	0.4	+
H08	E	9.4	NNNM	6	Bilateral HÜN	Bilateral VÜR	Sağda skar	Elonge, trabeküle mesane	Ogmentasyon Mitrofannof	TAK Antikolinerjik Alfa blokör	Yok	0.6	+
H09	E	14.8	NNNM	5	Sağ böbrek parankimi ince, ekojenitesi artmış, sağ HÜN	Sağ grade 4 VÜR	Sağda skar	Elonge, trabeküle mesane	Sol nefrektomi Sağ UNC Ogmentasyon	TAK Koruyucu ab. Antikolinerjik	Transplantasyon	1.3	+
H10	E	5.1	NNNM	4	Sağ böbrek parankimi ince, bilateral HÜN	Bilateral grade 5 VÜR	Sağda skar	Yüksek basınçlı, hipokomplian, elonge, trabeküle mesane	Yok	Koruma Antikolinerjik Alfa blokör	Yok	0.4	+
H11	E	7.6	NNNM	5.5	Sol böbrek hipoplazik, parankimi ince, bilateral HÜN	Normal	Normal	Hipokomplian, elonge mesane	Yok	Koruyucu ab. Alfa blokör	Yok	0.5	-
H12	K	9.8	NNNM	7	Bilateral HN	Sağ grade 4 VÜR	Sağda skar	Yüksek basınçlı, hipokomplian, elonge mesane	Sağ SE	TAK Antikolinerjik	Yok	0.4	-
H13	K	11.2	NNNM	3	Bilateral böbrek hipoplazik ve ekojenitesi artmış	Bilateral grade 5 VÜR	Bilateral skar	Yüksek basınçlı, hipokomplian mesane	Bilateral UNC	Koruyucu ab.	Diyaliz	8.7	-
H14	K	8.2	NNNM	0.3	Sağ böbrek hipoplazik, bilateral böbrek parankimi ince, ekojenite artmış, bilateral HÜN	Sağ grade 5 VÜR	Sağda skar	Yüksek basınçlı, trabeküle mesane	Sağ SE Sağ UNC Ogmentasyon Mitrofannof	TAK	Prediyaliz	0.8	+

H15	K	7.3	NNNM	1	Bilateral böbrek parankimi ince, bilateral HÜN	Bilateral VÜR	Bilateral skar	Yüksek basınçlı, trabeküle mesane, çam ağacı görünümü	Sol SE	TAK Koruyucu ab. Antikolinerjik	Yok	0.7	+
H16	E	12.9	NNNM	5	Sağ böbrek parankimi ince, bilateral böbrek ekojenitesi artmış, bilateral HN	Sol grade 5 VÜR	Bilateral skar	Yüksek basınçlı, trabeküle mesane	Sol SE Ogmentasyon Mitrofannof	TAK Koruyucu ab. Antikolinerjik Alfa blokör	Prediyaliz	1.2	-
H17	K	8.8	NNNM	2	Sol böbrek parankimi ince, bilateral böbrek ekojenitesi artmış, bilateral HÜN	Sol grade 5 VÜR	Solda skar	Yüksek basınçlı, hipokomplian, elonge, trabeküle mesane	Sol UNC	TAK Koruyucu ab. Antikolinerjik	Yok	0.6	-
H18	K	16.8	NNNM	5	Bilateral HÜN	Normal	Bilateral skar	Yüksek basınçlı, hipokomplian, elonge, trabeküle mesane, çam ağacı görünümü	Yok	TAK Antikolinerjik	Prediyaliz	4.1	-
H19	E	18.3	NNNM	10	Sol renal agenezi, sağ böbrek parankimi ince, sağ HÜN, rezidü idrar	Sağ grade 5 VÜR	Sağda skar	Elonge, trabeküle mesane	Yok	TAK	Diyaliz	8.0	+
H20	E	11	NNNM	6.5	Bilateral böbrek parankimi ince, parankim ekojeniteleri artmış, bilateral HÜN	Normal		Konturları irregüler, multipl divertikül içeren mesane	Yok	TAK Koruyucu ab. Antikolinerjik	Yok	0.9	+
H21	E	16.3	NNNM	13.4	Bilateral böbrek parankimi diffüz ince, parankim ekojeniteleri artmış, bilateral HÜN	Sağ grade 5 VÜR	Bilateral skar	Hipokomplian, trabeküle mesane	?	TAK Antikolinerjik	TransplantasyonExitus	1.1	+
H22	E	17.6	NNNM	10.3	Bilateral böbrek parankimi ince, rezidü idrar	Sol grade 5 VÜR	Bilateral skar	Trabeküle mesane	Sol SE	TAK Koruyucu ab.	Prediyaliz	1.7	+

H23	K	16	NNNM	11.3	Bilateral böbrek parankimi ince, parankim ekojeniteleri artmış, bilateral HN	Sağ grade 5 VÜR	Bilateral skar	Elonge, trabeküle, multipl divertikül içeren mesane	?	TAK Koruyucu ab.	Diyaliz	6.6	+
H24	E	16.3	NNNM-Anal atrezi	1	Sağ MKDB, sol böbrek ekojenite artışı, sol HÜN	Bilateral grade 5 VÜR	Solda skar	Hipokomplian, trabeküle mesane	Bilateral UNC Sağ nefrektomi	TAK Koruyucu ab.	Transplantasyon	1.0	-
H25	E	4.9	NNNM-Anal atrezi	1.8	Bilateral ÇTS, sol bb parankimi ince, bilateral HÜN	Sol grade 5 VÜR	Bilateral skar	Elonge, trabeküle mesane	Bilateral UNC	TAK Koruyucu ab. Antikolinerjik	Yok	0.5	-
H26	E	10.3	NNNM-Anal atrezi	3	Sağ MKDB, sol böbrek parankimi ince, ekojenitesi artmış, sol HÜN	Sol grade 5 VÜR Mesane elonge, trabeküle	Solda skar	Yok	Yok	TAK Koruyucu ab. Antikolinerjik	Prediyaliz	4.0	+
H27	E	10	AÜSD	10	Sağ böbrek parankimi ince, sağ ÇTS, bilateral HN, rezidü idrar	Sağ grade 4 VÜR	Bilateral skar	Elonge, trabeküle mesane	Sağ UNC	Koruyucu ab.	Yok	0.5	+
H28	K	18.4	AÜSD	5	Sağ böbrek hipoplazik ve parankimi ince	Sağ grade 3 VÜR	Bilateral skar	Yok	Sağ SE Sağ UNC	Koruyucu ab.	Yok	0.7	-
H29	K	10.8	AÜSD	10	Elonge mesane, rezidü idrar	Sağ grade 2 VÜR	Normal	Yok	Sağ SE	Koruyucu ab.	Yok	0.5	-
H30	E	0.4	AÜSD	0.2	Bilateral HN, mesane duvarı kalın	Normal	Normal	Normal	Yok	Koruyucu ab.	Yok	0.2	-
H31	E	1.3	AÜSD	0.2	Sol kros ektopik füzyone böbrek, bilateral böbrek parankimi ince, bilateral HN	Bilateral grade 3 VÜR, trabeküle mesane	Solda skar	Yok	Bilateral SE	Koruyucu ab.	Prediyaliz	1.0	+

H32	E	2.8	AÜSD	0.8	Sağ HN, mesane duvarı kalın	Sol grade 4 VÜR Sağ grade 2 VÜR Mesane elonge, kapasitesi küçük ve trabeküle	Solda skar	Yok	Yok	Koruyucu ab.	Yok	0.3	+
H33	K	11.9	AÜSD	7	Sağ HN	Sol grade 3 VÜR Sağ grade 2 VÜR	Solda skar	Yok	Yok	Koruyucu ab.	Yok	0.4	+

USG: Ultrasonografi, MSUG: Miksiyon sisto-üretrografi, DMSA: dimerkaptosüksinik asit, NNNM: Non-nörojenik nörojenik mesane, AÜSD: Alt üriner sistem disfonksiyonu, HN: Hidronefroz, HÜN: Hidroüreteronefroz, MKDB: Multikistik displastik böbrek, ÇTS: Çift toplayıcı sistem, VÜR: Vezikoüreteral reflü, SE: Subüreterik enjeksiyon, UNC: Üreteroneosistostomi, TAK: Temiz aralıklı kateterizasyon, ab: antibiyotik.

4.1. Bulguların Özeti

HPSE2 gen değişimi 33 ailenin 20'sinde (%61), 35 hastanın 21'inde (%60) saptandı.

HPSE2 gen değişimi beş ÜFS'u olan ailenin üçünde (%60), yedi ÜFS'lu hastanın dördünde (%57) saptandı.

HPSE2 gen değişimi 21 NNNM'si olan ailenin 13'ünde (%62) saptandı.

HPSE2 gen değişimi yedi AÜSD olan ailenin dördünde (%57) saptandı.

Tek yumurta ikizi olan ÜFS tanısıyla izlenen iki erkek kardeşte (H04 numaralı aile) 3. eksonda homozigot c.457C>T (p.R153X) anlamsız (nonsense) mutasyonu saptandı.

4. eksonda c.631T>C (p.Y211H) (rs147866530) değişimi H02 ve H21 numaralı ailelerde etkilenmiş (sırasıyla ÜFS ve NNNM'si olan) bireylerde heterozigot ve H33 numaralı ailenin etkilenmiş (AÜSD'u olan) bir bireyinde ise homozigot olarak saptandı.

12. eksonda homozigot c.1736A>T (p.Y579F) (rs10883100) değişimi 12 (H05-1, H07, H09, H14, H15, H20, H22, H23, H26, H27, H31 ve H33 numaralı) ailede etkilenmiş (sekiz NNNM, üç AÜSD ve bir ÜFS) bireylerde saptandı.

12. eksonda heterozigot c.1736A>T (p.Y579F) (rs10883100) değişimi altı (H06, H08, H10, H19, H21 ve H32 numaralı) ailede etkilenmiş (beş NNNM, bir AÜSD) bireylerde saptandı.

H21 numaralı ailenin etkilenmiş (NNNM) bireyinde hem 4. eksonda heterozigot c.631T>C (p.Y211H), hem de 12. eksonda heterozigot c.1736A>T (p.Y579F) değişimi saptandı.

H33 numaralı ailenin etkilenmiş (AÜSD) bireyinde ise hem 4. eksonda homozigot c.631T>C (p.Y211H), hem de 12. eksonda homozigot c.1736A>T (p.Y579F) değişimi saptandı.

H04 numaralı ailedeki bireylerde saptanmış olan homozigot c.457C>T (p.R153X) mutasyonu ÜFS'dan sorumlu mutasyon olarak kabul edildi. Ancak c.631T>C (p.Y211H) ve c.1736A>T (p.Y579F) değişimleri tek nokta polimorfizmi olarak değerlendirildi.

5. TARTIŞMA

Fonksiyonel işeme bozuklukları çocukluk çağında sık görülen bir klinik tablodur. Geniş bir klinik spektrumdan oluşur. Non-nörojenik nörojenik mesane (NNNM) olarak da adlandırılan Hinman Sendromu işeme bozukluğunun en ağır formudur ve ciddi üst üriner sistem etkilenmesi nedeniyle ağır morbiditeye neden olur. Ürofasial Sendrom (Ochoa Sendromu) ise NNNM'nin erken başlangıçlı ve şiddetli bir formudur. Gülerken ağlayan yüz ifadesi ve beraberinde nörolojik hasar veya anatomik patoloji olmaksızın mesanenin tam olarak boşaltılamaması ile karakterize bir hastalıktır. Son yıllarda ÜFS'u olan olgularda yapılan genetik çalışmalar, ÜFS'un genetik nedenli bir hastalık olduğunu ortaya çıkarmıştır (6-8, 48, 49). Bu durum, yüz bulgusu olmayan benzer mesane fonksiyon bozukluğu gösteren hastalarda da altta yatan genetik faktörlerin hastalık patogenezinde rol alabileceğini akla getirmektedir.

Ürofasial Sendrom ilk kez 1979 yılında Dr. Rafael Elejalde (10) tarafından tanımlanmış olup 1987 yılında Ochoa ve Gorlin (11) akraba olmayan üç aileden yedi ÜFS'lu hastada otozomal resesif geçişi göstermiştir. Wang ve arkadaşları 1997 yılında Kolombiya'lı aileler üzerinde yaptıkları genetik çalışmalarla ÜFS'dan sorumlu genin 10q23-q24 kromozomunda yer aldığını saptamışlar (48), 2003 yılında ise bu genin 10q23-q24 kromozomunda yer alan 220 kb'lık bir bölgede olduğunu göstermişlerdir (49, 50). 2010 yılında Daly ve arkadaşları (6) üçü Türk olan altı ailede *HPSE2* geninde biallelik mutasyon olduğunu göstermişlerdir (Tablo 6.1.). Yine aynı dönemlerde Pang ve arkadaşları (7) da *HPSE2* geninde fonksiyon kaybına yol açan üç mutasyonu Kolombiya'lı, Amerika'lı ve Fransız dokuz ailedeki tüm ÜFS'lu olgularda saptamışlardır. 2011 yılında Al Badr ve arkadaşları (12) Orta Doğu'lu bir ailenin tek çocuğunda *HPSE2* geninde çerçeve kayması (frame shift) mutasyonu saptamışlardır. Son olarak 2012 yılında Mahmood ve arkadaşları (13) Pakistan'lı bir ailede *HPSE2* geninde yanlış anlamlı (missense) mutasyon saptamışlardır. Çalışmamız Türkiye'de ÜFS olgularında *HPSE2* gen değişimlerinin araştırıldığı ilk araştırmadır. Bu çalışmada beş ÜFS ailesinden üçünde, yedi ÜFS olgusunun dördünde toplam üç farklı *HPSE2* gen değişimi saptanmıştır. Ancak bu

gen değişimlerinden sadece bir tanesi daha önce mutasyon olarak kabul edilmiş olup çalışmamızda bir ailenin iki ikiz erkek çocuğunda saptanmıştır.

Daly ve arkadaşlarının (6) çalışmasında daha önceden bildirilmiş üç Türk ailesinde (5, 45) üç farklı mutasyon bildirilmiştir. İlki; 16 yaşındaki ÜFS'lu kız çocuğunda 10. eksonda homozigot c.1414C>T anlamsız (nonsense) mutasyonu, ikincisi; ÜFS'lu 1.5 yaşındaki tek yumurta ikizi iki erkek çocuğunda (çalışmamızdaki H04 numaralı aile) 3. eksonda homozigot c.457C>T anlamsız (nonsense) mutasyonu, üçüncüsü ise; beş ÜFS'lu çocukta 1. eksonda homozigot c.57dupC çerçeve kayması (frame shift) mutasyonu saptanmıştır. Yine bu çalışmada ÜFS'u olan Pakistanlı iki ve 10 yaşındaki iki erkek ve altı yaşındaki bir kız çocuğunda 8. ve 9. eksonda c.1099-4166_1320+840delins23 çerçeve delesyonu (in frame deletion) mutasyonu, üç yaşında ÜFS tanısı almış İspanyol erkek çocuğunda 3. eksonda c.449-?_610+? çerçeve delesyonu (in frame deletion) mutasyonu ve son olarak ÜFS'u olan İrlandalı iki kız çocuğunda 10. eksonda homozigot c.1465_1466del çerçeve kayması (frame shift) mutasyonu saptanmıştır.

Pang ve arkadaşlarının çalışmasında (7) ise Kolombiyalı toplam altı aileden ÜFS'u olan dört kız, iki erkek çocukta 11. eksonda homozigot c.1516C>T anlamsız (nonsense) mutasyonu, Amerika'dan iki aileden ÜFS'lu iki erkek çocukta 10. eksonda homozigot c.1465_1466delAA mutasyonu ve Fransa'dan ÜFS'u olan iki erkek çocuğunda hem 10. eksonda c.1465_1466delAA hem de 1. eksonda c.241_242delCT mutasyonu saptanmıştır.

Al Badr ve arkadaşlarının çalışmasında (12) Orta Doğu'dan beş yaşında ÜFS tanı almış bir çocukta 10. eksonda c.1374_1378delTGTGC çerçeve kayması (frame shift) mutasyonu saptanmıştır. Mahmood ve arkadaşlarının çalışmasında (13) ise ÜFS'u olan Pakistanlı üç kız çocuğunda 12. eksonda homozigot c.1628A>T yanlış anlamlı (missense) mutasyonu saptanmıştır.

Bugüne kadar toplam 17 aileden 28 ÜFS'u olan hastada 10 farklı *HPSE2* mutasyonu saptanmıştır. Tablo 6.1.'de çalışmalarda bugüne kadar tanımlanmış olan tüm *HPSE2* mutasyonları gösterilmektedir. Mutasyon saptanmış olan 17 ailenin 9'unda (%53) anne baba arasında akrabalık vardır. Yine mutasyon saptanmış olan ailelerden üçü

(%18), hastalardan da sekizi (%29) Türk'tür ve bu ailelerin hepsinde akrabalık vardır. Türk ailelerde de üç farklı mutasyon saptanmıştır. Biz de çalışmamızda beş ÜFS'u olan Türk aileden birinde toplam yedi ÜFS olgusundan ikisinde daha önce Daly ve arkadaşlarının da saptadığı şekilde aynı *HPSE2* mutasyonunu (homozigot c.457C>T (p.R153X)) saptadık.

Tablo 6.1. Ürofasial Sendrom olgularında bugüne kadar tanımlanmış olan tüm *HPSE2* mutasyonları (6, 7, 12, 13).

Aile - Hasta sayısı	**Ülke**	**Nükleotid değişikliği**	**Ekson**	**Aminoasit değişikliği**
1-3	Pakistan	Homozigot c.1099-4166_1320+840delins23	8, 9	p.V367_P440del
1-1	Türkiye	Homozigot c.1414C>T	10	p.R472X
1-2	Türkiye	Homozigot c.457C>T	3	p.R153X
1-5	Türkiye	Homozigot c.57dupC	1	p.A20RfsX45
1-1	İspanya	Homozigot c.449-?_610+?	3	p.D150_T203del
1-2	İrlanda	Homozigot c.1465_1466del	10	p.N489PfsX126
6-6	Kolombiya	Homozigot c.1516C>T	11	p.R506X
2-2	Amerika	Homozigot c.1465_1466delAA	10	
1-2	Fransa	Heterozigot c.1465_1466delAA	10	
		Heterozigot c.241_242delCT	1	
1-1	Orta Doğu	Homozigot c.1374_1378delTGTGC	10	p.Ala458Alafsdel132ins153 p.N543I
1-3	Pakistan	Homozigot c.1628A>T	12	

Bu çalışmada yapılan gen analizi sonucunda bir ailede c.457C>T (p.R153X) anlamsız (nonsense) mutasyonu, üç ailede c.631T>C (p.Y211H) (rs147866530) değişimi ve 18 ailede de c.1736A>T (p.Y579F) (rs10883100) değişimi gösterilmiştir.

H04 numaralı ailenin etkilenmiş bireylerinde (ÜFS) homozigot olarak gösterilen c.457C>T (p.R153X) mutasyonu genin 3. eksonunda yer almaktadır. Bu değişim proteinin 153. kodonundaki arjinin aminoasidinin dur kodonuna değişmesine neden olmaktadır. Böylece proteinin yalnızca 153 aminoasitlik kısmı oluşmaktadır ve protein kısa kaldığı için görevini yapamadığı düşünülmektedir.

c.631T>C (p.Y211H) (rs147866530) değişimi H02 ve H21 numaralı ailelerde etkilenmiş bireylerde (sırasıyla ÜFS ve NNNM) heterozigot ve H33 numaralı ailenin etkilenmiş bir bireyinde (AÜSD) ise homozigot olarak 4. eksonda gösterilmiştir. Bu değişim proteinin 211. kodonundaki tirozin aminoasidinin histidin aminoasidine değişmesine neden olmaktadır. c.631T>C (p.Y211H) değişimi daha önce 2012 yılında yapılmış bir çalışmada, Pakistanlı bir ÜFS ailesinin etkilenmiş üç bireyinde homozigot olarak gösterilmiştir (13). Saptanan bu değişim, internet tabanlı bir analiz programı olan PolyPhen (*Polymorphism Phenotyping*) programı kullanılarak değerlendirilmiş ve proteinde ciddi bir hasara neden olmadığı gösterilmiştir. Ayrıca bu değişim, aynı etnik kökene sahip 113 sağlıklı bireyin dokuzunda heterozigot ve birinde de homozigot olarak saptanmıştır. Bu verilere göre c.631T>C (p.Y211H) değişiminin tek nokta polimorfizmi (*single nucleotid polymorphism*-SNP) olduğu belirtilmiştir (13). Bizim çalışmamızda da c.631T>C (p.Y211H) değişiminin iki farklı ailede heterozigot olarak gösterilmiş olması ve eşlik eden başka bir mutasyonun da bulunmamış olması, bu değişimin tek nokta polimorfizmi olduğunu desteklemektedir.

Çalışmada ayrıca toplam 33 ailenin 12'sinde homozigot olarak, altısında heterozigot olarak c.1736A>T (p.Y579F) (rs10883100) değişimi gösterilmiştir. Bu değişim proteinin 579. kodonundaki tirozin aminoasidinin fenilalanin aminoasidine değişmesine neden olmaktadır. Bu değişim, internet tabanlı bir analiz programı olan PolyPhen programı kullanılarak değerlendirilmiş ve proteinde ciddi bir hasara neden olmadığı gösterilmiştir ve tek nokta polimorfizmi olduğu düşünülmektedir. Ayrıca '*University of California, Santa Cruz (*UCSC*) genome bioinformatic*' veri tabanında gösterilen 1000 genom faz 1 çalışmalarına göre de bu değişim sağlıklı toplumun yaklaşık %50'sinde bulunmaktadır; bu verilere göre de c.1736A>T (p.Y579F) değişiminin hastalık yapıcı etkisi olmadığı düşünülmektedir.

Yıllar içinde genetik çalışmalar hızla devam etmiş ve son olarak 2013 yılında Stuart ve arkadaşları (8) tarafından ikisi Türk olan üç ailede 1p13.2 kromozomunda yer alan *LRIG2* geninde biallelik gen değişimi saptanmıştır. Saptanmış olan mutasyonların ilki 10. eksonda homozigot c.1230delA (p.Glu410Aspfs*6) çerçeve kayması (frame shift) mutasyonu, ikincisi 15. eksonda homozigot c.2125C>T (p.Arg709*) anlamsız (nonsense) mutasyonu üçüncüsü ise aralarında akrabalık bulunmayan İspanya'lı anne ve babanın beş yaşındaki kız çocuğunda 15. eksonda heterozigot c.2088delC (p.Ser697Hisfs*11) çerçeve kayması (frame shift) mutasyonu ve 14. eksonda heterozigot c.1980_1981ins371 insersiyonudur.

Stuart ve arkadaşları (8) bu güne kadar ÜFS'u olan toplam 14 aileyi gen değişimleri açısından değerlendirdiklerini ve dokuz ailede (64.3%) *HPSE2*, üç (21.4%) ailede *LRIG2* gen değişimlerini saptadıklarını, iki (14.3%) ailede ise hiçbir gen değişimi saptayamadıklarını bildirmişlerdir. Pang ve arkadaşları (7) ÜFS'u olan toplam 9 aileyi gen değişimleri açısından değerlendirmişler ve ailelerin hepsinde (%100) de *HPSE2* gen değişimini saptamışlardır. Daly ve arkadaşları (6) ise toplam 10 aileyi gen değişimleri açısından değerlendirmişler ve altı (%60) ailede *HPSE2* gen değişimini saptamışlardır. *HPSE2* ve *LRIG2* gen değişimlerinin tüm ÜFS'lu hastalarda gösterilememesi genetik heterojeniteyi desteklemektedir. Bu durum bilinmeyen başka genler ve proteinlerin de ÜFS patogenezinde sorumlu olduğunu düşündürmektedir.

Mesane fonksiyon bozukluklarının şiddeti aileler ve hasta bireyler arasında değişkenlik göstermektedir. Ancak henüz genotip fenotip ilişkisi belirlenememiştir. Mahmood ve arkadaşları (13) aynı *HPSE2* gen değişimi (c.1628A>T) saptanmış olan üç kız kardeşte (ikisi ikiz kardeş) hastalık şiddetinin farklı olduğunu bildirmişlerdir. Garcia-Minaur ve arkadaşlarının (4) bildirdiği İrlandalı iki kız kardeşte de aynı *HPSE2* (homozigot c.1465_1466del (p.N489PfsX126) çerçeve kayması (frame shift)) mutasyonu saptanmış olup (6), kardeşlerden biri üç yaşında, diğeri ise otuzlu yaşlarında tanı almıştır. Aynı mutasyona sahip hastaların farklı klinik özelliklere sahip olduğunu söyleyenler olduğu gibi farklı gen (*HPSE2* ve *LRIG2)* mutasyonlarına sahip ÜFS'lu olguların klinik olarak farklı seyretmediği de bildirilmiştir (6, 8). Bizim de *HPSE2* mutasyonunu saptadığımız ailedeki tek

yumurta ikizi erkek kardeşlerin de hastalık şiddeti ve klinik bulguları birbirinden farklıdır. Kardeşlerden birine mesane ogmentasyonu yapılmış olup, hasta sık sık İYE geçirmekte, diğer kardeş ise sadece TAK yapmakta ve daha az sıklıkta İYE geçirmektedir. Ayrıca ilk kardeşin serum kreatinin düzeyi de diğer kardeşe göre yüksektir.

Aynı değişkenlik yüz bulguları için de bildirilmektedir. Aydogdu ve arkadaşları (5) mesane disfonksiyonu ve tipik yüz bulgusu bulunan iki yaşındaki bir ÜFS'lu olgunun yedi yaşındaki kuzeninde mesane disfonksiyonu bulgularının belirgin olduğunu ancak tipik yüz bulgusu olmadığını bildirmişlerdir. Yine aynı bildiride mesane disfonksiyonu ve tipik yüz bulgusu bulunan sekiz yaşındaki bir ÜFS'lu olgunun 10 yaşındaki kuzeninde mesane fonksiyonlarının tüm incelemelerde tamamen normal olmasına karşın tipik yüz bulgusunun olduğunu bildirmişlerdir. Bizim de H02 numaralı ÜFS'lu hastamızın erkek kardeşinde tipik yüz görünümü vardır ancak herhangi bir üriner sistem bulgusu yoktur. Yapılmış olan üriner sistem US ve üroflovmetri incelemesi normal olarak saptanmıştır.

Non-nörojenik nörojenik mesane ilk tanımlandığından beri tuvalet eğitimi tamamlandıktan sonra ortaya çıkan, nedeni tam olarak belli olmayan edinsel bir patoloji olarak bilinmektedir. Patogenezi net değildir. Ancak son yıllarda erken çocukluk döneminde bildirilen olgularla konjenital alt tiplerinin de olduğu düşünülmektedir. 1997 yılında Jayanthi ve arkadaşları (14) erken çocukluk döneminde (<30 ay) anatomik veya nörolojik patolojisi bulunmayan, NNNM tanısı almış yedi olgu (beş erkek, iki kız) bildirmişlerdir. Üç olgu antenatal hidronefroz, iki olgu ürosepsis, iki olgu da büyüme gelişme geriliği ile başvurmuş, radyolojik ve ürodinamik incelemeler sonucunda beş hastada duvar kalınlığı artmış hipokomplian mesane, iki hastada da mesanenin yetersiz boşaldığı ve üriner retansiyon olduğu saptanmış. Hastaların hepsinde üst üriner sistem etkilenmesi bulunurken; altı hastada hidroüreteronefroz, dört hastada VÜR ve dört hastada azotemi saptanmış. Hastaların hepsine ilk aşamada kutanöz vezikostomi uygulanmış. Üç hastada mesane fonksiyonları belirgin düzelmiş ve vezikostomi kapatılmış. İzlemlerinde mesane duvar kalınlığı artışı devam eden üç hastanın ikisinde böbrek yetmezliği gelişmiş ve mesane ogmentasyonu yapılmış. Diğer hastanın ise mesane depolama

fonksiyonlarında bir miktar düzelme olmakla birlikte TAK ihtiyacı devam etmiş. Bu olgularla NNNM'nin neonatal dönemde de ortaya çıkabilen bir patoloji olduğu ileri sürülmüştür.

Yine 2006'da Cheikhelard ve arkadaşları (15) tarafından erken dönemde eliminasyon bozukluğu ve üst üriner sistem etkilenmesi olan, konvansiyonel tedaviye yanıt vermeyen ve 'NOCOBLIND' (*Non-Obstructive COngenital BLadder and INtestinal Dysfunction*) olarak tanımlanmış 11 hasta bildirilmiştir. Tüm bu erken çocukluk döneminde bulgu veren NNNM olguları, bu patolojinin her zaman edinsel olmadığını düşündürmektedir. Altta yatan genetik faktörlerin hastalık patogenezinde rol alabileceğini akla getirmiştir.

Vidal ve arkadaşları (16) 2009 yılında tuvalet eğitimi tamamlanmadan önce tanı alan üst üriner sistem etkilenmesi ve şiddetli mesane disfonksiyonu olup nörolojik ve anatomik obstrüktif bir patolojisi olmayan 11 hasta bildirmişlerdir. Beş hastada (grup 1) prenatal şiddetli hidroüreteronefroz saptanmış olup, hastalar tuvalet eğitimi tamamlandıktan veya üreteral reimplantasyon yapıldıktan sonra (üç hasta) şiddetli mesane disfonksiyonu tanısı almışlardır. 14 yıllık median takip süresi sonunda dört hastaya mesane ogmentasyonu yapılmış ve bu hastaların TAK ihtiyacı olduğu görülmüştür. Bir hastanın bulgularının ise işeme eğitimi ile düzeldiği gözlenmiştir. İkinci grupta ise altı hastanın, 2-30 aylıkken VÜR (dört hasta) ve/veya hidroüreteronefroz (dört hasta) gibi mesane disfonksiyonunun indirekt bulguları ile prezente olduğu bildirilmiştir. 11 yıllık median takip süresi sonunda üç hastanın TAK uyguladığı, üç hastaya mesane ogmentasyonu yapıldığı, üç hastada kronik böbrek yetmezliği geliştiği ve bunların bir tanesine de böbrek nakli yapılmış olduğu bildirilmiştir. Yazarlar bu bildiride NNNM'nin etyolojiye göre üç farklı şekilde; kazanılmış, konjenital ya da erken çocukluk dönemi NNNM olarak alt gruplar halinde tanımlanabileceğini belirtmişlerdir.

Biz çalışmamıza başladığımızda bugüne kadar NNNM'li hastalarda herhangi bir genetik çalışma yapılmamıştı. Biz NNNM'ye sahip hastaların mutlaka genetik açıdan değelendirilmesinin gerekli olduğunu düşünerek bu çalışmayı yaptık. Çünkü bu hastaların da etyolojisinde altta yatan genetik bir bozukluk olabileceğini düşündüren

birkaç neden vardır. En önemlisi yüz bulgusu olmayan mesane fonksiyon bozukluğuna sahip hastaların da ÜFS'lu hastalarla aynı klinik, radyolojik ve ürodinamik özelliklere sahip olması ve ÜFS'u olan olgularda *HPSE2* ve *LRIG2* gen ekspresyonlarının mesanede yüksek oranda saptanmış olmasıdır. Ayrıca bu hastalık sadece edinsel olsaydı birçok hastada aynı klinik gidişi görebilirdik. Oysa bu hastalar çok ağır morbiditeye sahip hastalardır. Bu nedenle NNNM olgularının her zaman edinsel olmadığı düşünülmektedir. Son yıllarda erken çocukluk döneminde tanı almış NNNM olgularının bildirilmesiyle de NNNM etyolojisinde genetik faktörlerin rol oynadığı düşüncesi gündeme gelmiştir. Dolayısıyla ağlayan yüz ifadesinden bağımsız olarak mesane fonksiyon bozukluğuna sahip NNNM veya ağır AÜSD olan olgulardan da *HPSE2* gen değişimlerinin sorumlu olabileceği düşünülmektedir.

Bizim çalışmamızda da yedi hastanın beşi (%71) erken çocukluk döneminde (<30 ay), hepsi 5 yaşından önce ÜFS tanısı almışlardı. Hastaların sadece bir tanesinde (%14) KBY gelişmiş olup, diyaliz tedavisi görmekteydi. Non-nörojenik nörojenik mesane hastalarının ise sadece beşi (%23) erken çocukluk döneminde tanı almıştı. Ancak bu hastaların 12'sinde (%57) KBH gelişmiş olup, 3'ü (%14) diyaliz tedavisi görmekte, 4'üne (%19) de böbrek nakli yapılmıştı.

Aslında bu hastalığın hepsi konjenital mi, yada erken çocukluk çağında mı başlıyor, bu konuyu halen bilmiyoruz. Çünkü bu hastalar doktora geç dönem geliyor, fark edilmiyor ya da önemsenmiyor olabilir. Belki de çok önemli bir kısmı konjenitaldir, yani erken yaşta başlamaktadır ancak doktora geç başvurduğu için geç tanı alıyor olabilirler.

Ülkemizde akraba evliliğinin yüksek oranda olması genetik hastalıkların ülkemizde olma ihtimalini arttırmaktadır. Nitekim çalışmalarda *HPSE2* mutasyonunun saptandığı hastaların yaklaşık 1/3'üne yakını, *LRIG2* mutasyonunun saptandığı hastaların da 2/3'ü Türk hastalardır. Ayrıca bugüne kadar *HPSE2* veya *LRIG2* mutasyonu saptanmış ailelerin yarısından fazlasında da akraba evliliği vardır. Dolayısıyla ülkemizde bu tür hastalar muhtemelen daha çok olabilir, mutlaka bu açıdan geniş çaplı araştırmalar yapmak gereklidir. Hem ÜFS'u olan hastalarda hem de NNNM veya AÜSD olan hastalarda mutlaka genetik ileri incelemeler

yapılmalıdır. Bu hastalıklara sahip çocuğu olan bir ailede gen değişimlerinin araştırılması doğum öncesi tanı, taşıyıcıların tespit edilmesi ve genetik danışma imkanı sağlar. Ayrıca son olarak bulunan *LRIG2* geni gibi başka yeni genler de bulunabilir. Çünkü halen altta yatan genetik mutasyonu bulunamayan ÜFS olguları bulunmaktadır.

Enürezisin genetik bir hastalık olduğunun anlaşılması da AÜS semptomları olan hastalarda genetik nedenlerin rol oynayabileceğini akla getirmektedir (23). Yine son yıllarda Prune Belly Sendromu'nda bulunan zayıf mesane kasından, detrüsör kontraksiyonunu sağlayan M3 reseptörünü kodlayan *CHRM3* mutasyonunun sorumlu olduğunun gösterilmiş olması mesane fonksiyonlarının bozulduğu hastalıklarda genetik nedenlerin büyük oranda rol oynayabileceğini göstermektedir (63). Böbrek ve üriner sistemin konjenital anomalileri (CAKUT) de çok heterojen bir hastalık grubudur ve bu grup hastalarda da pek çok gen tanımlanmış durumdadır (64, 65, 66). Aynı genlerin farklı CAKUT'lara neden olabildiği, ya da aynı tip CAKUT'ların farklı genetik mutasyonlara sahip olabildiği bilinmektedir. Dolayısıyla ÜFS'a neden olan farklı genler ileride bulunabilir ve bu genetik mutasyonların da farklı başka CAKUT'lara neden olabileceği de ileride görülebilir. Günümüzde böbrek ve üriner sistemin konjenital anomalilerinin genetiği önü açık olan, çok önemli bir konu haline gelmiştir. Bu konuda ileride pek çok çalışma yapılabilir.

Ürofasial Sendrom ve NNNM'si olan çocuklarda tekrarlayan İYE, ürosepsis, hipertansiyon, ve SDBY'ne ilerleyebilen geri dönüşümsüz KBH gelişebilmekte, hastaların bir kısmına diyaliz tedavisi uygulanmakta, bir kısmına da böbrek nakli yapılmaktadır. Kronik böbrek hastalığı ve böbrek yetmezliği önemli bir halk sağlığı sorunudur ve tüm dünyada gittikçe artan bir ekonomik yük oluşturmaktadır. Böbrek yetmezliğine bağlı morbidite ve mortalite oranları renal replasman tedavisinin uygulanmasına rağmen son derece yüksektir. Hastalarda büyüme geriliği ve pek çok sistemi ilgilendiren komplikasyonlar gelişir. Bu hastaların yaşamları boyunca yakın takip edilmesi gerekmektedir. Hastalarda psikososyal uyum sorunları gibi hayat kalitesini düşüren sorunlara da neden olmaktadır ve bu sorunlar erişkin döneme kadar uzanarak hastaların başarılı bir iş ve sosyal hayata sahip olmasını engeller. Toplumsal bir bakış açısıyla da bu hastaların hayatı boyunca devam edecek olan

tedavi masrafları nedeniyle sağlık sistemine önemli bir ekonomik yük oluşturmakta ve hasta bireyler ile ailelerinin çalışma potansiyellerini belirgin olarak etkilemektedir.

Çok yeni olarak 2013 yılında Stuart ve arkadaşları (8) üç aileden dört ÜFS'lu olguda *LRIG2* mutasyonlarını tanımladıktan sonra 23 NNNM'ye sahip (farklı etnik kökene sahip 13 İngiliz ve daha önceden bildirilmiş 10 Türk (67) hastayı da *LRIG2* mutasyonu açısından taramışlardır. Bir İngiliz erkek çocukta birleşik (compound) heterozigot 13. eksonda c.1648C>T (p.Arg550Cys) ve 16. eksonda c.2554A>T (p.IIe852Phe) yanlış anlamlı (missense) varyantı bildirilmiştir. Bu hasta 10 yaşındayken iki yıldır devam eden sekonder enürezis yakınması ile başvurmuş, hipertansiyon ve hafif böbrek etkilenmesi varmış ve yapılan incelemeler sonucu duvarı kalınlaşmış, trabeküle ve hipokomplian bir mesane, bilateral şiddetli hidronefroz, detrüsör sfinkter dissinerjisi saptanmış. Hastanın izleminde mesane ogmentasyonuna rağmen böbrek yetmezliği gelişmiş. Ancak hastanın herhangi bir ÜFS'a ait yüz bulgusu yokmuş. Hastada saptanmış olan c.1648C>T (p.Arg550Cys) varyantının EVS (*Exome Variant Server*)'de nadir görülen bir varyant (8600 Avrupalı ve Amerikalı'da iki allelde) olduğu, ancak c.2554A>T (p.IIe852Phe) varyantının EVS'de olmadığı halde dbSNP (*The Single Nucleotide Polymorphism database*)'de bildirilmiş olduğu, 550 ve 852 rezidü pozisyonlarının *Tetraodon*'larda da korunmuş bölge olduğu, Polyphen-2 (*Polymorphism Phenotyping version 2*)'de her iki varyantın da hasar verici olduğu ve SIFT (*Sorting Intolerant From Tolerant*)'in her iki varyantı da zararlı olarak tanımladığı bildirilmiştir.

Bizim çalışmamız ile ile Türkiye'de ilk kez ÜFS'u olan hastalarda, yine tüm dünyada ilk kez NNNM veya AÜSD olan çocuklarda *HPSE2* gen değişimlerinin varlığı araştırılmıştır. Yakın gelecekte genetik bilimindeki ilerlemeler sayesinde, bilinmeyen sorular açıklığa kavuşacak ve bu hastalıkların patogenezinin tam olarak aydınlanması mümkün olacaktır. Tüm bu gelişmeler hastalığa ve hastalara yaklaşımı değiştirecek, ilerleyen zamanlarda bu hastalıkların tanı ve tedavisine yönelik önemli ilerlemeler sağlayacaktır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

HPSE2 mutasyonu ÜFS'u olan hastaların bir kısmından sorumlu genetik bozukluktur.

3. eksonda yer alan homozigot c.457C>T (p.R153X) anlamsız (nonsense) mutasyonu ÜFS'a yol açan *HPSE2* mutasyonlarından bir tanesidir.

Tüm ÜFS'u olan olgularda *HPSE2* mutasyonunun saptanamamış olması, ÜFS etyolojisinde başka gen değişimlerinin de rolü olabileceğini akla getirmektedir.

HPSE2 mutasyonunun saptanamadığı ÜFS hastalarında *LRIG2* gen değişimleri araştırılmalıdır.

Non-nörojenik nörojenik mesanesi olan olgularda *HPSE2* gen değişimlerinin varlığı bugüne kadar ilk kez araştırılmıştır. Ancak herhangi bir *HPSE2* mutasyonu saptanamamıştır ve *HPSE2* mutasyonunun NNNM'den sorumlu olmadığı anlaşılmıştır.

Alt üriner sistem disfonksiyonu olan olgularda *HPSE2* gen değişimlerinin varlığı bugüne kadar ilk kez araştırılmıştır. Ancak herhangi bir *HPSE2* mutasyonu saptanamamıştır ve *HPSE2* mutasyonunun AÜSD'ndan sorumlu olmadığı anlaşılmıştır.

Non-nörojenik nörojenik mesanesi ve AÜSD olan hastalarda altta yatan muhtemelen başka gen değişimleri mevcuttur ve yeni genler aranmalıdır.

HPSE2 mutasyonunun saptanamadığı NNNM ve AÜSD olan hastalarda *LRIG2* gen değişimleri araştırılmalıdır.

ÖZET

NON-NÖROJENİK NÖROJENİK MESANE VE ÜROFASİAL SENDROM (OCHOA SENDROMU) OLGULARINDA *HPSE2* GEN DEĞİŞİMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

İşeme bozukluğu çocukluk çağında sık görülen bir klinik tablodur. Geniş bir klinik spektrumdan oluşur. Non-nörojenik nörojenik mesane (NNNM) spektrumun en ucunda yer alan, işeme bozukluğunun en ağır formudur. Patogenezi bilinmemektedir. Ürofasial Sendrom (ÜFS) (Ochoa Sendromu) ise NNNM'nin erken başlangıçlı ve şiddetli bir formudur. Gülerken ağlayan yüz ifadesi ve belirgin nörolojik hasar veya anatomik mesane çıkış obstrüksiyonu olmaksızın mesanenin tam olarak boşaltılamaması ile karakterize otozomal resesif geçişli bir hastalıktır.

Son yıllarda ÜFS'u olan bazı olgulardan *HPSE2* ve *LRIG2* mutasyonlarının sorumlu olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı ülkemizdeki ÜFS olgularında ve yüz bulgusu olmayan diğer NNNM'li ve AÜSD olan olgularda *HPSE2* gen değişimlerinin araştırılmasıdır. *HPSE2* geninin mesanede eksprese olması, aynı genlerdeki değişimlerin izole NNNM ve alt üriner sistem disfonksiyonu (AÜSD) olan olgularda da sorumlu olabileceklerini düşündürmektedir.

Çalışma grubunu 33 ayrı aileden gelen 35 hasta oluşturdu. Beş ayrı aileden gelen yedi ÜFS hastası, 21 NNNM ve yedi AÜSD olan hasta çalışmaya alındı. Bu hastalarda *HPSE2* gen değişimlerinin varlığı araştırıldı. Bu çalışmada gen değişimi tarama yöntemi olarak Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) tekniği kullanılmış, sonrasında doğrudan dizi analizi işlemi yapılmıştır.

HPSE2 gen değişimi 33 ailenin 20'sinde (%61), 35 hastanın 21'inde (%60) saptandı. ÜFS'u olan beş ailenin üçünde (%60), yedi ÜFS'u olan hastanın dördünde (%57), 21 NNNM'si olan ailenin 13'ünde (%62), yedi AÜSD olan ailenin dördünde (%57)

HPSE2 gen değişimi tespit edildi. 3. eksonda homozigot c.457C>T (p.R153X), 4. eksonda homozigot ve heterozigot c.631T>C (p.Y211H) ve 12. eksonda homozigot ve heterozigot c.1736A>T (p.Y579F) gen değişimleri saptandı. Ancak sadece homozigot c.457C>T (p.R153X) anlamsız (nonsense) mutasyonunun ÜFS'lu olgularda hastalıktan sorumlu olduğu, c.457C>T (p.R153X) ve c.631T>C (p.Y211H) gen değişimlerinin ise tek nokta polimorfizmi olduğu düşünüldü. Sonuç olarak NNNM ve AÜSD'na neden olabilecek yeni genler araştırılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: İşeme bozukluğu, Non-nörojenik nörojenik mesane (NNNM), Hinman Sendromu, Ürofasial sendrom (ÜFS), Ochoa Sendromu, Alt üriner sistem disfonksiyonu (AÜSD), *HPSE2* mutasyonları.

SUMMARY

ANALYSIS OF *HPSE2* GENE MUTATIONS IN CHILDREN WITH NON-NEUROGENIC NEUROGENIC BLADDER AND UROFACIAL (OCHOA) SYNDROME

Dysfunctional voiding is a common manifestation in childhood and it has a wide clinical spectrum. Non-neurogenic neurogenic bladder (NNNB) also called as Hinman's Syndrome is a severe form of voiding dysfunction. The pathogenesis of the syndrome is not clear. Urofacial (Ochoa) Syndrome (UFS) is a severe and early onset form of NNNB. It's a rare, autosomal recessive disorder which is characterized by abnormal facial expression as if in pain or sadness when they tried to smile or laugh and neurogenic bladder without apparent neurological or obstructive abnormality.

In recent years it was found that *HPSE2* and *LRIG2* mutations cause UFS. The aim of our study is to analyse *HPSE2* mutations in UFS patients, patients who have NNNB without abnormal facial expression or lower urinary tract disease (LUTD) in our country. Due to the expression of *HPSE2* gene in the bladder, these mutations might also be responsible from NNNB without abnormal facial expression and LUTD.

We examined total of 35 patients from 33 families. There were seven UFS patients from five different families, 21 patients with NNNB and seven with LUTD. *HPSE2* gene mutation analysis was performed using the polymerase chain reaction protocol followed by direct sequencing in these patients.

HPSE2 gene mutations were detected in 20 (%61) of 33 families and 21 (60%) of 35 patients studied; three (60%) of five families with UFS, four (57%) of seven patients with UFS, 13 (62%) of 21 families with NNNB and four (57%) of seven families with LUTD. The detected mutations included homozygous c.457C>T (p.R153X) (exon 3), homozygous and heterozygous c.631T>C (p.Y211H) (exon 4) and

homozygous and heterozygous c.1736A>T (p.Y579F) (exon 12). Homozygous c.457C>T (p.R153X) nonsense mutation is the only UFS-causing mutation, but c.631T>C (p.Y211H) and c.1736A>T (p.Y579F) are benign SNP. As a consequence, NNNB or LUTD-causing new gene mutations should be investigated.

Key words: Voiding dysfunction, Non-neurogenic neurogenic bladder (NNNB), Hinman's Syndrome, Urofacial Syndrome (UFS), Ochoa Syndrome, Lower urinary tract disease (LUTD), *HPSE2* gene mutations

KAYNAKLAR

1. Mitchell ME, Balcom AH. Bladder dysfunction in children. In: Avner ED, Harmon WE, Niaudet P, Yoshikawa N (eds). *Pediatric Nephrology*. 6th ed. Heidelberg, Springer, 2009;1379-1403

2. Perez LM, Rushton HG. A pragmatic approach to the evaluation and management of non-neuropathic daytime voiding disorders. In: Gearhart JP, Rink RC, Mouriquand PDE (eds). *Pediatric Urology*. Philadelphia, WB Saunders, 2001;470-495

3. Chauve X, Missirian C, Malzac P, Girardot L, Guys JM, Louis C, Philip N, Voelckel MA. Genetic homogeneity of the urofacial (Ochoa) syndrome confirmed in a new French family. *Am J Med Genet* 2000;95:10-12

4. Garcia-Minaur S, Oliver F, Yanez JM, Soriano JR, Quinn F, Reardon W. Three new European cases of urofacial (Ochoa) syndrome. *Clin Dysmorphol* 2001;10:165-170

5. Aydogdu O, Burgu B, Demirel F, Soygür T, Özçakar ZB, Yalçınkaya F, Tekgül S. Ochoa syndrome: a spectrum of urofacial syndrome. *Eur J Pediatr* 2010;169:431-435

6. Daly SB, Urquhart JE, Hilton E, McKenzie EA, Kammerer RA, Lewis M, Kerr B, Stuart H, Donnai D, Long DA, Burgu B, Aydogdu O, Derbent M, Garcia-Minaur S, Reardon W, Gener B, Shalev S, Smith R, Woolf AS, Black GC, Newman WG. Mutations in HPSE2 cause urofacial syndrome. *Am J Hum Genet* 2010;11:963-969

7. Pang J, Zhang S, Yang P, Hawkins-Lee B, Zhong J, Zhang Y, Ochoa B, Agundez JA, Voelckel MA, Gu W, Xiong WC, Mei L, She JX, Wang CY. Loss-of function mutations in HPSE2 cause the autosomal recessive urofacial syndrome. *Am J Hum Genet* 2010;11:957-962

8. Stuart HM, Roberts NA, Burgu B, Daly SB, Urquhart JE, Bhaskar S, Dickerson JE, Mermerkaya M, Silay MS, Lewis MA, Olondriz MB, Gener B, Beetz C, Varga RE, Gülpınar O, Süer E, Soygür T, Özçakar ZB, Yalçınkaya F, Kavaz A, Bulum B, Gücük A, Yue WW, Erdogan F, Berry A, Hanley NA, McKenzie EA, Hilton EN, Woolf AS, Newman WG. LRIG2 mutations cause urofacial syndrome. *Am J Hum Genet* 2013;92(2):259-264

9. Ochoa B. Can a congenital dysfunctional bladder be diagnosed from a smile? The Ochoa syndrome updated. *Pediatr Nephrol* 2004;19:6-12

10. Elejalde BR. Genetic and diagnostic considerations in three families with abnormalities of facial expression and congenital urinary obstruction: "The Ochoa syndrome". *Am J Med Genet* 1979;3:97-108

11. Ochoa B and Gorlin RJ. Urofacial (ochoa) syndrome. *Am J Med Genet* 1987;27:661-667

12. Al Badr W, Al Bader S, Otto E, Hildebrandt F, Ackley T, Peng W, Xu J, Li J, Owens KM, Bloom D, Innis JW. Exome capture and massively parallel sequencing identifies a novel *HPSE2* mutation in a Saudi Arabian child with Ochoa (urofacial) syndrome. *J Pediatr Urol* 2011;7:569-573

13. Mahmood S, Beetz C, Tahir MM, Imran M, Mumtaz R, Bassmann I, Jahic A, Malik M, Nürnberg G, Hassan SA, Rana S, Nürnberg P, Hübner CA. First *HPSE2* missense mutation in urofacial syndrome. *Clin Genet* 2012;81:88-92

14. Jayanthi VR, Khoury AE, McLorie GA, Agarwal SK. The nonneurogenic neurogenic bladder of early infancy. *J Urol* 1997;158:1281-1285

15. Cheikhelard A, Chaouadi D, Teklali Y, Mouriquand P. Non-obstructive congenital bladder and intestinal dysfunction (NOCOBLIND). *J Pediatr Urol* 2006;2:128

16. Vidal I, Héloury Y, Ravasse P, Lenormand L, Leclair MD. Severe bladder dysfunction revealed prenatally or during infancy. *J Pediatr Urol* 2009;5:3-7

17. Steers WD. Physiology and pharmacology of the bladder and urethra. In: Walsh PC, Retol AB, Vaughan ED, Wein AJ (eds). *Campbell's Urology*. 7th ed Philadelphia, WB Saunders, 1997;870-916

18. Muellner SR. Development of urinary control in children: some aspects of the cause and treatment of primary enuresis. *J Am Med Assoc* 1960;172:1256-1261

19. Goellner MH, Ziegler EE, Fomon SJ. Urination during the first three years of life. *Nephron* 1981;28:174-178

20. Yeung CK, Godley ML, Ho CK, Ransley PG, Duffy PG, Chen CN, Li AK. Some new insights into bladder function in infancy. *Br J Urol* 1995;76:235-240

21. Yeates WK. Bladder function in normal micturition. In: Kolvin I, MacKeith RC, Meadow SR (eds): *Bladder Control and Enuresis*. London, W Heinemann Medical, 1973;28-365

22. Nevéus T, von Gontard A, Hoebeke P, Hjälmås K, Bauer S, Bower W, Jørgensen TM, Rittig S, Walle JV, Yeung CK, Djurhuus JC. The standardization of terminology of lower urinary tract function in children and adolescents: report from the Standardisation Committee of the International Children's Continence Society. *J Urol* 2006;176(1):314-324

23. Nevéus T, Läckgren G, Tuvemo T, Hetta J, Hjälmås K, Stenberg A. Enuresis-background and treatment. *Scand J Urol Nephrol Suppl* 2000;206:1-44

24. Tekgül S, Riedmiller H, Dogan HS, Hoebeke P, Kocvara R, Nijman R, Radmayr Chr, Stein R. Daytime Lower Urinary Tract Conditions. In: Guidelines on Paediatric Urology. European Association of Urology, 2013;44-47

25. Sihoe JDY, Wong SN, Yeung CK. Voiding Disorders. In: Geary DF, Schaefer F (eds). *Comprehensive Pediatric Nephrology*. Philadelphia, Elsevier, 2008;587-606

26. van Gool JD, de Jonge GA. Urge syndrome and urge incontinence. *Arch Dis Child* 1989;64:1629-1634

27. Vincent SA. Postural control of urinary incontinence. The curtsy sign. *Lancet* 1966;2:631-632.

28. O'Regan S, Yazbeck S, Hamberger B, Schick E. Constipation a commonly unrecognized cause of enuresis. *Am J Dis Child* 1986;140:260-261

29. Koff SA, Wagner TT, Jayanthi VR. The relationship among dysfunctional elimination syndromes, primary vesicoureteral reflux and urinary tract infections in children. *J Urol* 1998;160:1019-1022

30. Hoebeke P, Bower W, Combs A, De Jong T, Yang S. Diagnostic evaluation of children with daytime incontinence. *J Urol* 2010;183:699-703

31. van Gool JD, Vijverberg MA, Messer AP, Elzinga-Plomp A, de Jong TP. Functional daytime incontinence: non-pharmacological treatment. *Scand J Urol Nephrol* 1992;141:93-103

32. Farhat W, Bägli DJ, Capolicchio G, O'Reilly S, Merguerian PA, Khoury A, McLorie GA. The dysfunctional voiding scoring system: quantitative standartization of dysfunctional voiding symptoms in children. *J Urol* 2000;164:1011-1015

33. Akbal C, Genç Y, Burgu B, Özden E, Tekgül S. Dysfunctional voiding and incontinence scoring system: quantitative evaluation of incontinence symptoms in pediatric population. *J Urol* 2005;173:969-973

34. Hellström AL. Urotherapy in children with dysfunctional bladder. *Scand J Urol Nephrol Suppl* 1992;141:106-107

35. Kari JA. Neuropathic bladder as a cause of chronic renal failure in children in developing countries. *Pediatr Nephrol* 2006;21:517-520

36. Beer E. Chronic retention of urine in children. *JAMA* 1915;65:1709

37. Hinman F, Baumann FW. Vesical and ureteral damage from voiding dysfunction in boys without neurologic or obstructive disease. *J Urol* 1973;109:727-732

38. Allen TD. The non-neurogenic neurogenic bladder. *J Urol* 1977;117:232-238

39. Ellsworth PI, Merguerian P, Copening ME. Sexual abuse: another causative factor in dysfunctional voiding. *J Urol* 1995;153:773-776

40. Garignon C, Mure PY, Paparel P, Chiche D, Mouriquand P. Severe bladder dysfunction in the child abuse victim. Hinman syndrome. *Presse Med* 2001;30:1918-1923

41. Handel LN, Barqawi A, Checa G, Furness PD 3rd, Koyle MA. Males with Down's syndrome and nonneurogenic neurogenic bladder. *J Urol* 2003;169:646-649

42. Teebi AS, Farag TI, el-Khalifa MY, Besisso MS, al-Ansari AG. Urofacial syndrome. *Am J Med Genet* 1989;34:608

43. Al-Hazmi HH, Hammad AA, Jednak R, El-Sherbiny MT. Urofacial syndrome. *Saudi Med J* 2007;28:1895-1897

44. Al-Qahtani FN. Ochoa syndrome: new features. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2003;14:61-64

45. Derbent M, Melek E, Arman A, Uçkan S, Baskın E. Urofacial (ochoa) syndrome: can a facial gestalt represent severe voiding dysfunction? *Ren Fail* 2009;31:589-592

46. Feng WC, Churchill BM. Dysfunctional elimination syndrome in children without obvious spinal cord diseases. *Pediatr Clin North Am* 2001;48:1489-1504

47. Woolf AS, Stuart HM, Roberts NA, McKenzie EA, Hilton EN, Newman WG. Urofacial syndrome: a genetic and congenital disease of aberrant urinary bladder innervation. *Pediatr Nephrol* 2013 Jul 9; (Epub ahead of print)

48. Wang CY, Hawkins-Lee B, Ochoa B, Walker RD, She JX. Homozygosity and linkage-disequilibrium mapping of the urofacial (Ochoa) syndrome gene to a 1-cM interval on chromosome 10q23-q24. *Am J Hum Genet* 1997;60:1461-1467

49. Wang CY, Shi JD, Yang P, Kumar PG, Li QZ, Run QG, Su YC, Scott HS, Kao KJ, She JX. Molecular cloning and characterization of a novel gene family of four ancient conserved domain proteins (ACDP). *Gene* 2003;306:37-44

50. Wang CY, Huang YQ, Shi JD, Marron MP, Ruan QG, Hawkins-Lee B, Ochoa B, She JX. Genetic homogeneity, high-resolution mapping, and mutation analysis of the urofacial (Ochoa) syndrome and exclusion of the glutamate oxaloacetate transaminase gene (GOT1) in the critical region as the disease gene. *Am J Med Genet* 1999;84:454-459

51. McKenzie E, Tyson K, Stamps A, Smith P, Turner P, Barry R, Hircock M, Patel S, Barry E, Stubberfield C, Terrett J, Page M. Cloning and expression profiling of Hpa2, a novel mammalian heparanase family member. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;276:1170-1177

52. Levy-Adam F, Feld S, Cohen-Kaplan V, Shteingauz A, Gross M, Arvatz G, Naroditsky I, Ilan N, Doweck I, Vlodavsky I. Heparanase 2 interacts with heparan sulfate with high affinity and inhibits heparanase activity. *J Biol Chem* 2010;285:28010-28019

53. Arvatz G, Shafat I, Levy-Adam F, Ilan N, Vlodavsky I. The heparanase system and tumor metastasis: is heparanase the seed and soil? *Cancer Metastasis Rev* 2011;30:253-268

54. Levy-Adam F, Ilan N, Vlodavsky I. Tumorigenic and adhesive properties of heparanase. *Semin Cancer Biol* 2010;20:153-160

55. Rodrigues LM, Theodoro TR, Matos LL, Mader AM, Milani C, Pinhal MA. Heparanase isoform expression and extracellular matrix remodeling in intervertebral disc degenerative disease. *Clinics (Sao Paulo)* 2011;66:903-909

56. Peretti T, Waisberg J, Mader AM, de Matos LL, da Costa RB, Conceição GM, Lopes AC, Nader HB, Pinhal MA. Heparanase-2, syndecan-1, and extracellular matrix remodelling in colorectal carcinoma. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008;20:756-765

57. Ochoa B. The urofacial (Ochoa) syndrome revisited. *J Urol* 1992;148:580-583

58. Schulman SL. Voiding dysfunction in children. *Urol Clin North Am* 2004;31:481-490

59. Holmlund C, Nilsson J, Guo D, Starefeldt A, Golovleva I, Henriksson R, Hedman H. Characterization and tissue-specific expression of human LRIG2. *Gene* 2004;332:35-43

60. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim

61. Stamps AC, Terrett JA, Adam PJ. Application of *in situ* reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) to tissue microarrays. *J Nanobiotechnology* 2003;1:3.

62. Price KL, Woolf AS, Long DA. Unraveling the genetic landscape of bladder development in mice. *J Urol* 2009;181:2366-2374

63. Weber S, Thiele H, Mir S, Toliat MR, Sozeri B, Reutter H, Draaken M, Ludwig M, Altmüller J, Frommolt P, Stuart HM, Ranjzad P, Hanley NA, Jennings R, Newman WG, Wilcox DT, Thiel U, Schlingmann KP, Beetz R, Hoyer PF, Konrad M, Schaefer F, Nürnberg P, Woolf AS. Muscarinic acetylcholine receptor M3 mutation causes urinary bladder disease and a prune-belly-like syndrome. *Am J Hum Genet* 2011;89:668-674

64. Weber S, Moriniere V, Knüppel T, Charbit M, Dusek J, Ghiggeri GM, Jankauskiené A, Mir S, Montini G, Peco-Antic A, Wühl E, Zurowska AM, Mehls O, Antignac C, Schaefer F, Salomon R. Prevalence of mutations in renal developmental genes in children with renal hypodysplasia: results of the ESCAPE study. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:2864-2870

65. Weber S, Taylor JC, Winyard P, Baker KF, Sullivan-Brown J, Schild R, Knüppel T, Zurowska AM, Caldas-Alfonso A, Litwin M, Emre S, Ghiggeri GM, Bakkaloglu A, Mehls O, Antignac C, Network E, Schaefer F, Burdine RD. SIX2 and BMP4 mutations associate with anomalous kidney development. *J Am Soc Nephrol* 2008;19:891-903

66. Saisawat P, Tasic V, Vega-Warner V, Kehinde EO, Günther B, Airik R, Innis JW, Hoskins BE, Hoefele J, Otto EA, Hildebrandt F. Identification of two novel CAKUT-causing genes by massively parallel exon resequencing of candidate genes in patients with unilateral renal agenesis. *Kidney Int* 2012;81:196-200

67. Silay MS, Tanriverdi O, Karatag T, Özçelik G, Horasanli K, Miroglu C. Twelve-year experience with Hinman-Allen syndrome at a single center. *Urology* 2011;78:1397-1401

EK

EK-1: NON-NÖROJENİK NÖROJENİK MESANE, ÜROFASİAL SENDROM ve ALT ÜRİNER SİSTEM DİSFONKSİYONU OLAN HASTA TAKİP FORMU

Hasta No: **Adres:**

Adı-Soyadı:

Dosya No:

Cinsiyet: **Tel. No:**

Yaş (DT):

Form doldurulma tarihi:

Hastanın takip edildiği merkez:

Özgeçmiş: Başlangıç yakınmaları ve zamanı:

Tanı yaşı (Tarih):

İYE öyküsü:

Soygeçmiş: Anne – baba akrabalık: Var Yok Derecesi:

Ailede benzer yüz bulguları olan kişi: Var Yok

Ailede benzer işeme bozukluğu olan kişi: Var Yok

Ailede başka böbrek hastalığı olan kişi: Var Yok

Ailede diyalize giren kişi: Var Yok

Ailede önemli, kalıtsal olduğu düşünülen böbrek dışı hastalık: Var Yok

Fizik muayene: VA: (%) Kan basıncı: mmHg

Boy: (%)

Mevcut yakınmaları:

Tedaviler:

Laboratuvar:

TİT:

BUN/Cre:

USG:

VSUG:

DMSA:

Videoürodinami:

Diğer:

Genetik inceleme:

Aile ağacı: