



T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

**KALSİYUM İÇERİKLİ BÖBREK TAŞ HASTALIĞI OLAN
HİPOSİTRATÜRİK BİREYLERDE SLC13A2 GENİ, rs11568476
MUTASYONU ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DR. EKREM BAŞARAN

DÜZCE - 2015



T.C.

DÜZCE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

**KALSİYUM İÇERİKLİ BÖBREK TAŞ HASTALIĞI OLAN
HİPOSİTRATÜRİK BİREYLERDE SLC13A2 GENİ, rs11568476
MUTASYONU ARAŞTIRILMASI**

DR. EKREM BAŞARAN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. ALİ TEKİN

Bu Tez Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimince

2015.04.02.298 No'lu Proje ile Desteklenmiştir.

DÜZCE - 2015

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca değerli bilgi ve tecrübelerini bizimle paylaşan, bize öğretmeyi öğreten ve bundan sonraki hekimlik yaşamımıza hazırlayan, bu yolda emin adımlarla yürümemizi sağlayan ve kendimi onunla çalışma fırsatı bulduğum için şanslı hissettiğim değerli tez hocam Sayın Prof. Dr. Ali TEKİN'e

Uzmanlık eğitimim boyunca desteğini her zaman hissettiğim, sabır ve hoşgörüsüyle örnek aldığım, engin bilgilerini ve samimiyetini bizden esirgemeyen, eğitimimde emeği tartışılmaz olan sayın Prof. Dr. Kamil ÇAM ve Doç. Dr. M. Ali KAYIKÇI 'ya Uzmanlık eğitimimin son dönemlerinde çalışma fırsatı bulduğum ve değerli bilgilerini benimle paylaşıp eğitimime katkı sağlayan sayın Yard. Doç. Dr. Alpaslan YÜKSEL'e

Tez çalışmamdaki değerli katkılarından ve emeğinden dolayı sayın Doç. Dr. Selma DÜZENLİ'ye

Desteğini ve ilgisini her koşulda hissettiğim, her zaman olduğu gibi bu süreçte de fedakar davranıp beni motive eden ,hayatıma anlam katan ve hayatımı kolaylaştıran sevgili eşim Yağmur'a ve biricik oğlum Kerem'e

Sonunda ve başında hayatımın her döneminde yanımda olan, şefkatleriyle donatan, hakları ödenmeyecek, bugünlere gelmemde büyük pay sahibi sevgili anneme ve babama

Meşakkatli ve zor çalışma şartlarında omuz omuza olduğumuz, desteklerini ve dostluklarını esirgemeyen, hayatımda önemli bir yer edinen 5 yılımı paylaştığım sevgili asistan arkadaşlarıma en içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Ekrem BAŞARAN

ÖZET

Kalsiyum İçerikli Böbrek Taş Hastalığı Olan Hipositratürik Bireylerde SLC13A2 Geni, rs11568476 Mutasyonu Araştırılması

Amaç: Üriner sistem taş hastalığı idrar yolu enfeksiyonları ve prostat patolojilerinden sonra üçüncü sıklıkta görülen üriner sistem hastalığıdır. Hipositratürik bireylerde kalsiyum içerikli böbrek taş hastalığı uzun zamandan beri bilinmektedir. Ancak bu hastalığın genetik temeli henüz aydınlatılamamıştır. Renal tübüllerde idrarda sitrat atılımını düzenleyen Na^+ di ve tri karboksilat taşıyıcılarını (NaDC) kodlayan SLC13A2 genindeki mutasyonların hipositratüriye neden olabileceği düşünülmektedir. Bu prospektif çalışmada, hipositratürik ve normositratürik kalsiyum taş hastalığı olan bireylerde SLC13A2 geni, rs11568476 mutasyonu sıklığının karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Taş analiz sonucu kalsiyum içerikli böbrek taşı olan 38 normositratürik ve 52 hipositratürik bireyler çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen hastaların tümünde *real time polimerase chain reaction* yöntemi ile NaDC deki proteinleri kodlayan SLC 13A2 geninin rs11568476 mutasyonun varlığı araştırıldı.

Bulgular: Her iki grup yaş, boy, kilo, cinsiyet, serum biyokimya parametreleri, idrar pH, idrar dansitesi ve idrar okzalat, kalsiyum, magnezyum düzeyleri bakımından benzer bulundu. Aile hikayesi olanlarda normositratürik olanlar hipositratürik olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p=0.024$). Kan ürik asit değerleri karşılaştırıldığında hipositratürik olanlarda normositratürik olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p=0.002$). Yapılan genetik analiz neticesinde her iki grupta da SLC13A2 geni, rs11568476 mutasyonu saptanmamıştır.

Sonuçlar: Bu çalışmada hipositratüri ile ilişkili kalsiyum içerikli böbrek taş hastalığı etiyopatogenezinde NaDC proteinini kodlayan SLC13A2 geni, rs11568476 mutasyonun rolü kanıtlanamamıştır.

Anahtar kelimeler: Hipositratüri; Na^+ di ve tri karboksilat taşıyıcıları; SLC13A2 geni, rs11568476 mutasyonu

ABSTRACT

Evaluation of rs11568476 mutation of SLC13A2 Gene in Individuals with Hypocitraturia and Calcium-Containing Kidney Calculi

Objective: Renal stone is third most common disease of urinary system after urinary tract infections and prostatic pathologies. The relationship between hypocitraturia and calcium stones is well documented. However, genetic ethiology is not well known. The SLC13A2 gene mutation which encodes Na⁺-di- and tri-carboxylate cotransporters (NaDC) regulates citrate excretion from renal tubules lead to hypocitraturia. In this prospective study we aimed at comparing 11568476 mutation of the SLC13A2 gene in hypocitraturic and normocitraturic patients with renal calcium stone disease.

Material and method: We studied 38 normocitraturic and 52 hypocitraturic patients who had calcium containing renal stones. rs11568476 mutation of the SLC13A2 gene was studied by real time polymerase chain reaction method.

Results: Both groups were similar according to mean age, mean weight, mean height, biochemical parameters, urine pH, density and 24-hour urinary excretion of oxalate, calcium and magnesium. In patients with positive family history of urinary stone disease, normocitraturia was significantly more prevalent than hypocitraturia ($p = 0.024$). Plasma uric acid level was found significantly higher in patients with hypocitraturia than in who with normocitraturia ($p = 0.002$). rs11568476 mutation of SLC13A2 gene was detected in none of the patients in both groups.

Conclusion: In this study our results couldn't demonstrate any association of rs11568476 mutant of SLC13A2 gene which encodes NADC protein with calcium containing renal stone disease in hypocitraturic patients.

Key words: Hypocitraturia; Na⁺-di- and tri-carboxylate cotransporters; SLC13A2 gene, rs11568476 mutation

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	1
ÖZET	2
ABSTRACT	3
Evaluation of rs11568476 mutation of SLC13A2 Gene in Individuals with Hypocitraturia and Calcium-Containing Kidney Calculi	3
İÇİNDEKİLER	4
SİMGELER VE KISALTMALAR	5
1.GİRİŞ ve AMAÇ:	7
2. GENEL BİLGİLER	8
2.1. Taş Hastalığı	8
2.1.1 Epidemiyoloji.....	8
2.1.2. Etiyoloji.....	8
2.1.3. Taş oluşumu mekanizmaları	11
2.1.4. Taş Tipleri.....	13
2.1.5. Taş Hastalığında Tanı	15
2.1.5.1. Semptom ve Bulgular	15
2.2. SLC13 Gen Ailesi.....	17
2.2.1. Na ⁺ di ve tri karboksilat taşıyıcıları (NaDC).....	19
2.2.1.1 SLC13A2 (NaDC1)	19
3. GEREÇ ve YÖNTEM:	23
4- BULGULAR	26
5- TARTIŞMA	33
7. KAYNAKLAR	38

SİMGELER VE KISALTMALAR

AUA	Amerikan Üroloji Derneği
DÜSG	Direkt Üriner Sistem Grafisi
EAU	Avrupa Üroloji Derneği
ESWL	Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy
Fp	Formation Product
IVP	İntravenöz Pyelografi
NaDC	Na ⁺ - di ve tri karboksilat taşıyıcıları
NaS	Na ⁺ - sülfat cotransportörleri
NSAİ	Non-steroidal anti-inflamatuar
OKP	Opossum Böbrek Proksimal Tübül
PTH	Paratiroid Hormon
RTA	Renal Tübüler Asidoz
SLC	Solute Carrier Families
Sp	Solubility Product
TCA	Trikarboksilik Asit Siklusu
ÜSTH	Üriner Sistem Taş Hastalığı

TABLO VE ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Tablo 1. Taş tipleri

Tablo 2. SLC13 – İnsan Na⁺-sülfat/di- ve tri-karboksilat kotransporter ailesi

Tablo 3. hNaDC1 (*SLC13A2*) gen mutasyonlarının neden olduğu polimorfizmler

Tablo 4. Yaş, boy ve vücut ağırlığı ölçümleri

Tablo 5. Cinsiyet dağılımı ve aile öyküsü pozitifliği

Tablo 6. Kan biyokimyası ve idrar bulguları

Tablo 7. 24-saat idrar analizleri

Tablo 8. SLC 13A2 geni, rs11568476 homozigot (GG) mutasyonu, hasta sonuçları

Şekil 1. SLC13 taşıyıcılarının dokulardaki dağılımı

Şekil 2. SLC13 transport sistem

Şekil 3. hNaDC1 yapısı ve varyantlardaki kod hatalarının lokalizasyonu

Şekil 4. SLC 13A2 geni, rs11568476 homozigot (GG) mutasyonu, referans değerleri

Şekil 5. SLC 13A2 geni, rs11568476 homozigot (GG) mutasyonu, hasta sonuç grafikleri

1.GİRİŞ ve AMAÇ:

Üriner sistem taş hastalığı (ÜSTH); antik çağlardan beri bilinmesine rağmen modern toplumun en sık karşılaşılan problemlerinden biri olmaya devam etmektedir (1). Üriner sistem hastalıkları içinde prostat patolojileri ve enfeksiyonlardan sonra üçüncü sıklıkla yer almaktadır(2).

Türkiye, “taş kuşağı” olarak adlandırılan belirgin bir coğrafi kuşakta yer aldığı için böbrek taşları sık görülür(3). Ancak ülkemizde önemli çalışmalar yapılmış olmakla birlikte, etiopatogenez hakkında bilgi henüz yetersizdir(3-7).

Böbrek taş hastalığının önemli sorunlarından biri de toplum için oluşturduğu maliyettir. Amerika Birleşik Devletleri’nde (ABD) 2000 yılında yapılmış bir çalışmada, bu hastalar için uygulanan tedavi giderleri 2,1 milyar dolar olarak hesaplanmıştır(1). ÜSTH’nın girişimsel tedavi yöntemlerindeki gelişmeler hastalıkla ilgili morbiditeyi azaltmasına rağmen, taşın tekrarlama olasılığını engellememektedir. Girişimsel tedavilerin yüksek maliyetli olması, son 15-20 yıldır morbiditesi daha az, basit ve ucuz olması gibi önemli avantajlara sahip önleyici tedaviye yönelimi arttırmıştır. Yapılan çalışmalar, taş oluşumunda rol alan metabolik ve çevresel faktörlerin ortaya çıkarılması ile bu faktörlere yönelik tedaviler verildiğinde ÜSTH’nın tekrarlama riskinin azaltılabileceğini göstermiştir(8).

Ülkemizde daha önce yapılan çalışmalar hipositraturinin kalsiyum böbrek taş hastalığı açısından önemli bir risk faktörü olduğunu göstermiştir(9). Kompleks bir süreç olan idrarla sitrat atılımı çevresel (ilaçlar, beslenme), fizyolojik (total renal fonksiyonlar ve renal asidifikasyon) ve muhtemel genetik faktörler tarafından belirlenmektedir. Renal tübüllerde idrarda sitrat atılımını düzenleyen Na^+ - di ve tri karboksilat taşıyıcıları enzimini kodlayan SLC13A2 geni rs11568476 mutasyonunun hipositraturiyeye neden olabileceği düşünülmekle birlikte, bunu doğrulayacak bilimsel veri bulunmamaktadır. Bu prospektif çalışmada, kalsiyum böbrek taşı olan ve 24 saatlik idrar örneği incelemelerinde hipositraturiy saptanan bireylerde SLC13A2 geni rs11568476 mutasyonu sıklığının, sitrat düzeyi normal olan hastalar ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Taş Hastalığı

2.1.1 Epidemiyoloji

Üriner sistem taş hastalığı (ÜSTH); oldukça eski bir halk sağlığı problemi olarak antik çağdan bu yana rastlanan, tedavi edilmediği takdirde böbrek fonksiyon bozukluğu ve renal hasara neden olabilen, sistemik bir hastalık olarak günümüzde de sık karşılaşılan ürolojik bir problemdir(1). Üriner sistem hastalıkları içinde enfeksiyonlar ve prostat patolojilerinden sonra üçüncü sıklıkla yer almaktadır(2). Epidemiyolojik çalışmalarda bölgesel ve etnik farklılık göstermekle birlikte taş hastalığının görülme sıklığı %12-15 arasında değişmekte olup, ülkemizde 14 ilde 1500 kişiyi kapsayacak şekilde yapılan çok merkezli bir epidemiyolojik çalışmada ÜSTH prevalansı %14,8 olarak bulunmuştur(10-12). Bu durum ÜSTH açısından ülkemizin endemik bölge olduğunu göstermektedir.

Böbrek taşlarının endüstriyel toplumlarda en sık görülen tipi kalsiyum oksalat veya bunun hidroksiapatit kombinasyonu olup böbrek taşlarının yaklaşık %75'ini oluşturur. Taşların %25'ini ise ürik asit, strüvit ya da sistin taşları oluşturur(13).

Üriner sistem taş hastalığı yüksek rekürrense sahiptir. Genellikle tanı ve tedavi sonrası uygun profilaksi uygulanmaz ise bir yıl içindeki %10 tekrarlama riskine sahip iken, hayat boyunca rekürrens riski ise %50-70 arasında değişmektedir(14).

2.1.2. Etiyoloji

2.1.2.1 Kalıtım ve Aile Öyküsü

Böbrek taşı oluşumuna yönelik yapılan birçok çalışmada ırklar arasında farklılıklar olduğu gösterilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'nde erkeklerde taş hastalığının görülme oranına yönelik yapılan bir çalışmada en sık %70 oranında beyazlarda, sonra sırası ile asyalılar (%63) ve afrikalı amerikalılarda (%43) bulunmuştur(15). Amerikalı kadınlarda ise yaklaşık olarak asyalı kadınların 2 katı taş hastalığı görülme oranı saptanmıştır(15). Genetik yatkınlığın kısmi geçiş özelliğinden dolayı ÜSTH'nın nesilden nesile aktarılması farklılık gösterebilmektedir. Yapılan genetik çalışmalarda ÜSTH'nın çoklu genetik bozuklukların parsiyel geçisiyle oluşabileceği bildirilmiştir(16, 17). Sistinüri, ksantinüri ve dihidroksiadeninüri gibi bazı genetik

geçişli hastalıklarda ÜSTH oluşma riski yüksektir. Ailesel renal tübüler asidozlu hastalarda %70'e varan oranlarda böbrek taş hastalığı veya nefrokalsinozis bildirilmektedir (18). Normal sağlıklı bireylerde böbrek taş hastalığı görülme oranı %4-22 iken, aile hikayesi pozitif olanlarda bu oran %16-37 arasında değişmektedir(19).

2.1.2.2 Yaş ve Cinsiyet

Üriner sistem taş hastalığı en çok 30- 60 yaşları arasında görülür(20). Taş hastalığının farklı merkezlerde yapılan erkek kadın oranı 1,4-2,1 arasında değişmektedir(10, 21-23).

Çocukluk çağında erkek ve kadın oranının eşit olması testosteronun etiyolojik rolünü akla getirmektedir. Hiperoksalüri taş oluşumu için bir risk faktörüdür. Yapılan bir çalışmada testosteronun karaciğerde endojen oksalata dönüşerek oksalat yapımının artmasına sebep olduğu bildirilmiştir(24).

Kadınlarda 6. dekattan sonra taş sıklığı artması menapoz öncesi dönemde östrojenin koruyucu etkisi olabileceğini düşündürmektedir(1).

2.1.2.3 Coğrafya ve İklim

Taş hastalığının coğrafi dağılımı çevresel risk faktörlerini takip etme eğiliminde olup; sıcak, dağ, çöl veya tropikal bölgeler gibi kuru iklimlerde yaşayanlarda üriner sistem taş prevalansı daha yüksektir (1). ABD, İngiltere, Kuzey Hindistan, Pakistan, Kuzey Avustralya, Orta Avrupa, Akdeniz ülkeleri ve Çin taş hastalığının sık görüldüğü bölgelerdir(25). Ülkemizde ÜSTH; Doğu Anadolu, Güneydoğu ve Akdeniz Bölgelerinde diğer bölgelere göre daha sık görülür(10).

Coğrafyanın taş oluşumu yanında, taşın cinsini belirleyici etkisi de vardır. İsrail'de ürik asit taşları daha sık görülürken; İngiltere, İskoçya ve Sudan'da kalsiyum okzalat ve fosfat kombinasyonu taşlarına daha fazla rastlanır (26, 27). Aynı ülkenin farklı yerlerinde bile taş tiplerinin görülme sıklığı söz konusudur. ABD'nin güneydoğusunda kalsiyum okzalat taşları sık görülürken, doğu sahillerinde ise ürik asit taşları daha sık gözlenmektedir(28).

Üriner sistem taş hastalığı ile çevresel ısı artışı arasındaki ilişki eskiden beri iyi bilinen bir konudur. Yüksek sıcaklık sonucu terleme ile sıvı kaybı artar. Yeterli sıvı alınmazsa idrar hacmi azalarak idrar konsantre hale gelir. Konsantre idrarda solüt yükü artarak

kristalizasyon kolaylaşır. Doğu Avustralya’da yapılan bir çalışmada taş hastalığı görülme sıklığının bu bölgede sıcaklığın en üst düzeye ulaştığı Aralık ve Mart ayları arasında zirvede olduğu belirtilmiştir(29). Uzun süre güneş ışınlarına maruz kalanlarda artmış 1,25 dihidroksivitamin D3 üretimi, idrar kalsiyumunu artırarak taş oluşum riskini hızlandırabileceği belirtilmiştir(30).

2.1.2.4 Sıvı Alımı

Üriner sistem taş hastalığı ve yüksek miktarda su alımı arasındaki ilişki uzun zamandan beri bilinmektedir. İçilen su miktarının arttırılması idrar miktarını artırarak dilüsyona neden olmakta ve kristal partiküllerinin toplayıcı sistemde kalış süresini kısaltarak taş oluşumunu azaltmaktadır(18). Günlük idrar volümünün 800 ml’den 1200 ml’ye çıkarılınca taş oluşum oranının %86 azaldığı gösterilmiştir (13).

Alınan sıvının türü de taş oluşumunu etkileyebilir. Portakal ve limon suyunun idrar sitrat miktarını arttırarak taş oluşumunu azalttığını bildiren çalışmalar mevcuttur(31). Çay, kahve gibi içeceklerin kalsiyum okzalat; alkolün kalsiyum fosfat taşı için risk faktörü olduğunu bildiren çalışmalar vardır(32, 33).

2.1.2.5 Beslenme ve Diyet

Diyetle fazla miktarda alınan purin, okzalat, kalsiyum, fosfat gibi elementlerin idrarla atılımı taş oluşumunu artırmaktadır. Ekonomik düzeyi yüksek olan ülkelerde hayvansal proteinden zengin gıdalarla ve aşırı karbonhidratlarla beslenmeye bağlı olarak taş hastalığı daha fazla görülmektedir(18). Aşırı protein alımında kalsiyum atılımının artış nedeni; glomerüler filtrasyon artışı ve kalsiyumun tübüler reabsorbsiyonunun azalmasıyla ilişkilidir(34). İdrar sitrat miktarı hayvansal protein alımının fazla olmasına bağlı olarak azalır. Bunun sebebi proksimal tübül içindeki asit yükünün artışına bağlı olarak sitratın glukoneogenezde kullanılması amacı ile reabsorbsiyonunun artmasıdır(35).

Beslenme ile alınan kalsiyumun taş oluşumu üzerine etkisine yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Günde 400 mg’dan az kalsiyum alınması kalsiyum dengesinin bozulmasına sebep olmaktadır(36). Günümüzde taş hastalığının önlenmesi amaçlı diyet ile kalsiyum kısıtlaması önerilmemektedir. Çünkü diyet ile alınan kalsiyum kısıtlanınca okzalat ile kompleks yapan kalsiyum miktarı azalacağı için idrar ile atılan okzalat miktarı artmaktadır(34, 35). Birçok besin maddesinde okzalat mevcuttur ve

beslenme ile alınan okzalattla taş hastalığı arasında anlamlı bir ilişki vardır. Tekrarlayıcı kalsiyum okzalat taş hastalığı olan hastalarda üriner okzalat atılımının arttığı görülmüştür(37).

2.1.2.6 Meslek

Sıvı kaybının yüksek olduğu meslekleri yapanlarda, idrar volümü azalarak taş gelişimi için artmış risk oluşturabilir(38). Sürekli ısıya maruz kalan makinistlerde idrarla ürik asit atılımı normal kontrollere göre belirgin olarak yüksek olduğu saptanmış, taş hastalığı insidansı ise normal popülasyondan 3-4 kat fazla olduğu bildirilmiştir(39). Yine başka bir çalışmada normal ısıda çalışan ve yüksek ısıda çalışan çelik işçileri karşılaştırılmış. Yüksek ısıda çalışanlarda taş insidansı %8 saptanırken düşük ısı da ise %0,9 saptanmıştır(40). İki grup arasında yapılan metabolik değerlendirmede yüksek sıcaklıkta çalışanlarda daha az idrar hacmi ve hipositratüri saptanmıştır(40).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada ofis işi yapanlarla, fiziksel aktivitesi yüksek olan işçiler arasında taş hastalığı görülme sıklığında belirgin bir fark saptanmamıştır(10).

Meslek gruplarında ısıya maruz kalma ve beslenme alışkanlıkları ile birlikte değerlendirmek daha doğru olacaktır.

2.1.3. Taş oluşumu mekanizmaları

Böbrek taşlarının oluşum mekanizmalarını açıklamak amacıyla beş teori öne sürülmüştür; ancak bunların hiç birisi tek başına taş oluşumunda yeterli olmadığı birçok olguda birden fazla teori ile taş oluşumu açıklanmıştır. Böbrek taşı oluşumuna neden olan beş teori şöyledir;

- Süpersatürasyon-Kristalizasyon Teorisi
- İdrar İnhibitörleri Eksikliği
- Matriks - Nükleasyon Teorisi
- Epitaksi
- Kombine Teoriler

2.1.3.1. Süpersatürasyon- Kristalizasyon Teorisi

Belirli bir sıcaklık ve pH'daki suya kristalize olabilen bir element konulduğunda, solüsyon halinde kalır. Saturasyonun doygunluğa ulaştığı ve kristalizasyonun başlayacağı nokta için solubility product (Sp) terimi kullanılır. Solüsyonda kalsiyum ve okzalat gibi iki element varsa bu iki elementin konsantrasyonu satürasyonu belirler.

İdrardaki sitrat gibi bazı organik maddeler kalsiyum ile birleşerek kalsiyum sitrat oluşumuna neden olur. Sitrat eksikliğinde kalsiyumun oksalat ile birleşerek taş oluşumuna zemin hazırlar. İdrarın içerdiği elektrik yüklü iyonlardan dolayı idrar suya oranla çok daha fazla miktardaki elementi eriyik halde tutabilir. Ancak idrarda da bu elementlerin miktarı daha da arttırılırsa artık eriyik halde kalamaz ve kristal çekirdekleri oluşmaya başlar. Bu noktaya ise formation product (Fp) adı verilir. Oluşan bu çekirdek üstünde kristalizasyon devam ettikçe kristal büyümeye devam eder ve bu kristal agregatları taş oluşumuna sebep olur(41). Solubility product ve formation product arası döneme metastable region adı verilir. Sp'nin altındaki döneme stabil zon adı verilir ve kristal çekirdeği oluşmaz. Fakat metastable zonunda yeni kristal çekirdeği oluşamaz fakat önceden oluşmuş kristal çekirdeği varsa bunun üzerinde taş oluşabilir, taş erimesi nadirdir. İdrar Fp alanında ise spontan kristal çekirdekleri oluşup, hızla büyüyerek agregasyon belirgin hale gelebilir.

Kristal çekirdeklerinin üzerine başka kristaller birikebilir. Tek bir maddeden oluşmuş homojen nükleasyon olabileceği gibi, değişik maddelerden oluşmuş heterojen nükleasyon da gerçekleşebilir. Bazı durumlarda değişik kimyasal etkiler sonucu kristaller birbirlerine bağlanıp (agregasyon) kristal kitlesi oluşur. Agregasyon sonucu oluşan kristal kitlesi etrafında yeni agregasyon oluşarak kristalin büyümesine ve taş oluşumuna neden olurlar(18). Ürik asit, sistin ve magnezyum amonyum fosfat taşlarının oluşumu bu teori ile açıklanabilir(42)

2.1.3.2. İnhibitör Eksikliği Teorisi

Bu teoriye göre bazı inhibitör maddeler taş oluşumunun farklı aşamalarına etki ederek inhibitör olarak görev üslenirler, kristalizasyonu önlerler. Bilinen en önemli inhibitörlerden birisi sitrattır. Sitrat kalsiyumun oksalat veya fosfat ile birleşimini engelleyerek taş oluşumunu önler. İdrarda sitrattan başka Mg, pirofosfat, nefrokalsin, Tamm-Horsfall proteini, üropontin, çinko, alanin ve glikozaminoglikanlar gibi inhibitörler vardır. Bunlar, kristallerin birbiri ile birleşmesini engellerleyerek taş oluşumunu önlerler(43, 44).

2.1.3.3. Matriks-Nükleasyon Teorisi

Böbrek taşları kristal ve kristal olmayan bileşenlerden oluşmaktadır. Böbrek taşının kristal olmayan kısmına matriks denir ve taşın ağırlığının yaklaşık %2,5'ini oluşturur(45). Matriksin kimyasal analizinde %65 protein, %9 amino olmayan şeker, %5 glukozamin, %10 bağımlı su ve %12 oranında organik kül olduğu ortaya çıkmıştır(46). Taş yapan hastaların idrarında bulunan bir takım proteinler bir çekirdek oluşturur ve bu çekirdeğin üstüne kristallerin çökmesiyle taşı meydana getirir(47). İdrarda mevcut albumin, alfa-1 ve alfa-2 globulinler, nadiren gama globulinler de matriks görevi yapabilir ve kristal birikimi için bir çekirdek işlevi görebilir(18).

2.1.3.4. Epitaksi Teorisi

İdrarda çok fazla kristal oluşursa kan kısmında kristal oluşturan maddenin satürasyonu azalır ve kristal büyüyemez. Fakat bir başka element fazla ise bu defa ilk kristalin yüzeyine bunlar yapışarak (epitaksi) iç ve dış tabakası farklı yapıda taş oluşur. Bu teori, kalsiyum oksalat taşı oluşumunu başlatan ürik asit kristallerinde sık görülmektedir(2).

2.1.3.5. Kombine Teoriler

Taş oluşumunu tek teoriyle açıklamak mümkün değildir. Genellikle yukarıda sayılan teorilerin hepsinin etkisi olduğunu savunan teoridir. Süpersatürasyon, kristalizasyon, inhibitör yokluğu ve matriks etkisi hep beraber değerlendirilmekte; taş oluşması için böbreğin, kristalize olabilecek maddeleri yeterli miktarda atabilecek ve pH'yı düzenliyecek düzeyde olması gerekir.

2.1.4. Taş Tipleri

Üriner sistem taşlarının yaklaşık %75'inde majör bileşen kalsiyumdur. Tüm taşların %60'ını kalsiyum oksalat, %20'sini miks kalsiyum oksalat ve hidroksiapatit, %10'unu ürik asit ve sitrüt (magnezyum amonyum fosfat) ve %2'sini brusit taşları oluşturur(48).

Tablo 1. Taş tipleri

Madde Adı	Mineral Adı	Formül
Kalsiyum Okzalat Monohidrat	Whewellite	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$
Kalsiyum Okzalat Dihidrat	Weddellite	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Hidroksiapatit	Hidroksiapatit	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
Karbonat-apatit	Karbonat-apatit	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4, \text{CO}_3, \text{OH})_6(\text{OH})_2$
Kalsiyum Hidrojen Fosfat Dihidrat	Brushite	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Trikalsiyum Fosfat	Whitlockite	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
Mg Amonyum Fosfat Heksahidrat	Strüvit	$\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
Anhidroz Ürik Asit	Yok	$\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$
Ürik Asit Dihidrat	Yok	$\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Amonyum Asit Ürat	Yok	$\text{C}_5\text{H}_3\text{N}_4\text{O}_3\text{NH}_4$
Sodyum Asit Ürat Monohidrat	Yok	$\text{C}_5\text{H}_3\text{N}_4\text{O}_3\text{Na} \cdot \text{H}_2\text{O}$

2.1.5. Taş Hastalığında Tanı

2.1.5.1. Semptom ve Bulgular

Üriner sistem taşları çoğunlukla ağrı ile semptom verirler. Ağrı kolik veya künt vasıflı olabilir. Renal kolik üriner obstrüksiyona bağlı oluşan basınçla üreter ve renal pelvisin gerilmesine bağlı oluşmaktadır. Künt vasıflı ağrı ise renal kapsül gerilmesine bağlı olarak oluşabilir. Ağrının şiddeti taşın üriner sistemdeki lokalizyonu, boyutu ve obstrüksiyonun derecesine göre farklı şiddette klinik semptom verebilir. Taşın konumuna bağlı olarak abdomene, sırtta, skrotuma ve labialara yayılabilir. Distal üreter taşlarında dizüri, pollaküri ve urgency görülebilir. Böbrek ve mide çöliak gangliondan innerve olur. Bu nedenle renal kolikçe sıklıkla bulantı ve kusma eşlik edebilir(20).

Taşın üriner sistemde yaptığı travmaya bağlı olarak mikroskopik veya makroskopik hematüri görülebilir. Ancak taş üriner sistemde tam obstrüksiyon yaparsa hematüri olmayabilir. Taşa bağlı idrar yolu enfeksiyonu gelişebilir. Enfeksiyonun şiddetine bağlı olarak ateş de eşlik edebilir(20).

Üriner sistem taş hastalığı tanısı için iyi bir fizik muayene yapılmalıdır. Akut batına neden olan akut apendisit, ektopik gebelik, over torsiyonu, safra koliği, ileus, akut renal arter embolisi gibi diğer ağrı nedenleri dışlanmalıdır. Kostavertebral açısı hassasiyetine bakılmalıdır. Uzun süreli obstrüksiyonlarda kostavertebral açısı hassasiyeti görülmeyebilir. Abdomen ve flank bölgesi muayene edilmeli, kostavertebral açısı hassasiyetine bakılmalıdır. İdrar retansiyonu renal kolik tarzı ağrıya neden olabileceği için mesane de palpe edilmelidir(20).

Üriner sistem taş hastalığı düşünülen hastalarda idrar tahlili yapılmalı, eğer pyüri varsa idrar kültürü de istenmelidir. İdrar tetkikinde genellikle mikroskopik hematüri gözlemlenebilir.

Rekürren taş oluşumu, aile taş öyküsü varlığı, osteoporoz, taşla beraber üriner sistem enfeksiyon öyküsü, soliter böbrek gibi durumlarda metabolik analiz yapılmalıdır. Bu amaçla 24 saatlik idrarda ürik asit, kreatinin, sodyum, kalsiyum, sitrat, okzalat, sistin parametrelerine; kanda ise hemogram, kreatinin, ürik asit, kalsiyum, fosfor, üre, protein, alkalin fosfat, sodyum, potasyum, paratiroid hormon parametreleri bakılmalıdır(49).

2.1.5.2. Radyolojik Bulgular

Üriner sistem taşlarının tanısında direkt üriner sistem grafisi (DÜSG), ultrasonografi,

intravenöz pyelografi (IVP) ve kontrastsız bilgisayarlı tomografiden (BT) yararlanılır. Böbrek taşlarının %90'ı radyopaktır(20). DÜSG ile %90 opasite görebiliriz. DÜSG'te taşa bağlı opasiteden başka safra kesesi taşı, mezenter lenf kalsifikasyonu, dalak kalsifikasyonu, fekaloid, damar duvarı kalsifikasyonları da görülebilmektedir. Bunun gibi şüpheli durumlarda ultrasonografiden yararlanılabilir.

Eskiden çok sık kullanılan IVP'in yerini artık BT almıştır. Böbrek taşları yanında üreter taşlarını da göstermesi, nonopak taşları göstermesi, kontrast madde ihtiyacı olmaması, batın içi diğer patolojileri de göstermesinden dolayı BT'nin kullanımı giderek artmaktadır. Ultrasonografi ve IVP'ye göre BT'in en büyük dezavantajı radyasyon dozunun biraz fazla olmasıdır.

2.1.5.3. Taş hastalığında tedavi

Böbrek taşı tedavisinin planlanmasında; taşın lokalizasyonu, boyutu, tek veya birden fazla olması, üriner sistem özellikleri, hastanın ek patolojileri, yaşı ve aktivitesi dikkat edilmesi gereken faktörler arasındadır(20). Tedavi aşamasında ilk öncelik ağrının giderilmesi, daha sonra taşların mümkün olduğunca temizlenmesi ve son olarak taş oluşumunun veya var olan taşların büyümesinin engellenmesidir(20).

Medikal tedavinin amacı renal kolik, küçük taşların düşürülmesi ve varsa taş hastalığına eşlik eden enfeksiyonun tedavisidir. Renal kolik varlığında nonsteroid antiinflamatuvarlar ilaçlar, parenteral antispazmotikler faydalıdır. Bu ilaçlardan yeterli yanıt alınamadığı durumlarda narkotik analjezikler kullanılmalıdır(20). Boyutları 4-5 mm'ye kadar olan ve düzgün yüzeyli taşların medikal yöntemlerle düşürülebilme olasılığı %40-50 kadardır(50). Düşürülecek taşı olan hastaların günlük idrar miktarı 3000 ml olacak şekilde sıvı alımı artırılmalıdır(50). Metabolik evaluasyon sonucunda bozukluk saptanan hastalarda metabolik tablonun düzeltilmesi taş oluşumunu önleyebilmektedir.

Medikal tedavinin başarılı olmadığı durumlarda ESWL, perkütan nefrolitotomi (PCNL), üreterorenoskopi (URS), açık ve laparoskopik cerrahi uygulanır. Cerrahi tedavi endikasyonları arasında üstesinden gelinemeyen inatçı üriner enfeksiyonlar, böbrekte ilerleyici hasar oluşması, üriner obstrüksiyon, inatçı ağrılar sayılabilir(20).

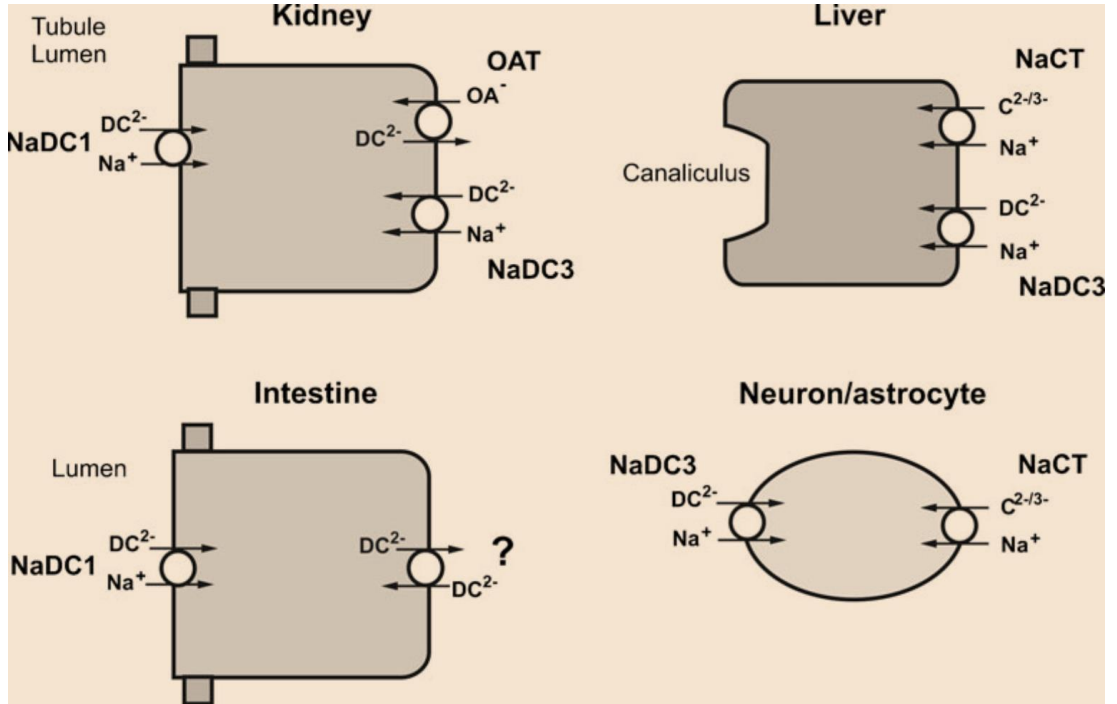
2.2. SLC13 Gen Ailesi

SLC13 ailesi taşıyıcılarının yapısını kodlayan 5 gen (SLC13A1, SLC13A2, SLC13A3, SLC13A4 ve SLC13A5) vardır (Tablo 2). SLC'nin genel yapısı santralden periferiye uzanan 8-13 alfa helikal yapılardan oluşur. SLC 13 aile üyeleri birçok dokuda özellikle böbrek, karaciğer, ince barsak, beyin ve plesantada bulunmaktadır (Şekil 1). SLC 13 taşıyıcıları sodyum bağımlı iyonların plazma membranlarından geçişini sağlar. SLC13 ailesi fonksiyonel olarak iki gruba ayrılır. Birinci grup Na^+ -sülfat kotransportörleri (NaS) sülfatı, selanatı ve tiosülfatı transport eder. İkinci grup olan Na^+ di ve tri karboksilat taşıyıcıları (NaDC) ise Krebs siklusu elemanlarının (süksinat, sitrat, alfa ketoglutarat gibi) taşınmasını sağlar (51).

Tablo 2. SLC13 – İnsan Na^+ -sülfat/di- ve tri-karboksilat kotransportör ailesi

	Protein adı	Baskın fizyolojik substratlar	Transport tipi	Doku dağılımı ve hücre / hücre içi ekspresyonu	Hastalığın linki	İnsan gen lokusu	NCBI RefSeq katılım ID
SLC13A1	NaS1 ve NaSi-1, Nasulfate	Sulfate, selenate, thiosulfate	Na^+/S	Kidney, proximal tubular cells, brush border membrane	Growth retardation, reduced fertility, seizures (KO mice)	7q31.32	NM_022444
SLC13A2	NaDC1 ve NaC1, SDCT1, NaDC-2	Succinate, citrate, aketoglutarate	Na^+/S	Kidney, intestine, brush border membrane	None	7q31.32	NM_003984
SLC13A3	NaDC3 ve NaC3, SDCT2	Succinate, citrate, aketoglutarate, NALA, glutarate and its derivatives	Na^+/S	Kidney, proximal tubule, basolateral membrane, liver, pancreas, brain, placenta	Possible indirect role in glutaric aciduria type 1, Canavan Disease,	20q13.12	NM_022829
SLC13A4	NaS2 ve SUT-1	Sulfate, oxyanions selenium and chromium	Na^+/S	Placenta, tonsillar high endothelial venules, testis, heart	None	7q33	NM_012450
SLC13A5	NaCTve NaC2	Citrate, succinate, pyruvate	Na^+/S	Liver, brain, testis	None	17p13	NM_177550

Şekil 1. SLC13 taşıyıcılarının dokulardaki dağılımı



(Pflugers Arch - Eur J Physiol (2014) 466:119–130)

NaS gurubu SLC13A1 ve SLC13A4 genleriyle temsil edilirler. Bu genler böbrekte NaS1 (SLC13A1) (Na^+ bağımlı inorganik sülfat transportunu gerçekleştirir) ve NaS2(SLC13A4) (Sülfat transportunu gerçekleştirir) ile kodlanırlar. Diğer grup NaDC ise SLC13A2, SLC13A3, SLC13A5 genleriyle kodlanırlar. Bu NaDC1 (SLC13A2) apikal yüzeyde bulunup Na^+ bağımlı dikarboksilat transportu yapar. NaDC3 (SLC13A3) bazolateral yüzeyde bulunur ve Na^+ bağımlı dikarboksilat transportu yapar. NaCT (SLC13A5) Na^+ bağımlı sitrat transportu yapar(51).

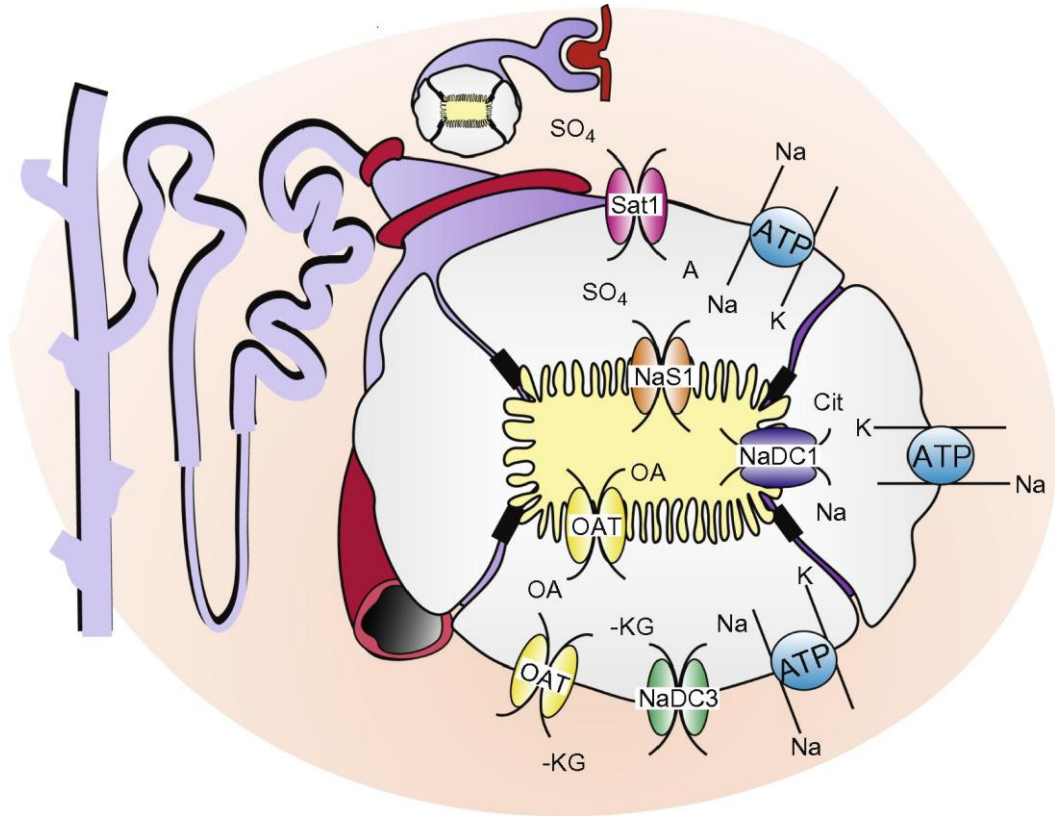
2.2.1. Na⁺ di ve tri karboksilat taşıyıcıları (NaDC)

2.2.1.1 SLC13A2 (NaDC1)

2.2.1.1.1. Yapısı

SLC13A2 DNA'sı birkaç prokaryot ve ökaryotta tespit edilmiştir(52, 53). Farelerde tavşanlarda ve insanlarda yapılan çalışmalarda bu genler bulunmuştur. İnsan SLC13A2 geni yaklaşık 23.8 kb uzunluğunda 17. kromozomun p 11.1-q11.1 alleleri arasında 12 ekzondan oluşmaktadır(54, 55). İnsan SLC13A2 geni NaDC1'i kodlar ve %54 NaCT ve NaDC3 proteinlerden oluşur(53). NaDC ince barsakta ve böbrekte eksprese edilmektedir. Özellikle renal proksimal tübüleri apikal membranlarında ve ince barsak hücrelerinde bulunur ve burarlardan trisiklik asit siklisunun üyelerinin reabsorbe olmasına yardımcı olur (Şekil 2) (51).

Şekil 2. SLC13 transport sistem



(M.J. Bergeron et al. / Molecular Aspects of Medicine 34 (2013) 299–312)

2.2.1.1.2. Fonksiyonu

NaDC1'in tipik transport özellikleri: Düşük afiniteli Na^+ - bağımlı karboksilat transport sistemi, elektron kotransportı, substrat spesifik di- ve tri-karboksilat, pH bağımsız suksinat kotransportı, pH bağımlı suksinat kotransportı ve lityum duyarlı kotranspotı şeklindedir(51).

NaDC1'in 3 önemli substratı Krebs siklusu üyeleri olan süksinat, alfa ketoglutarat ve sitrattır. En önemli fizyolojik substratı sitrattır. Diğer üyeler ise oksalat, fumarat ve malattır. Bunlar düşük potansiyele sahip substratlardır(56).

Lityum iyonları NaDC1'e bağlanarak yarışmalı inhibitör olarak görev yaparlar ve dikarboksilat tranpotırını engeller(54). Na^+ varlığında lityum NaDC1 için yüksek afinite gösterir. Buna rağmen bazı türler arasında çeşitli farklılıklar mevcuttur. İnsan NaDC1'i lityuma düşük afinite gösterir ve lityumu Na^+ 'un yerine kabul etmez. Ancak Na^+ varlığında lityum inhibisyon yapabilir(57). NaDC1'in suyu transport etme yeteneği de olduğu gösterilmiştir(58).

2.2.1.1.3. Fonksiyonel ve moleküler regülasyon

Hücre içi ve dışı çalışmalar göstermiştir ki asidoz NaDC1 çalışmasını stimüle eder ama alkaloz sadece sitratın taşınmasını etkiler(59, 60). Asidozis durumunda sitratın trivalent formu hidrojen ile birleşerek sitratın divalent forma geçmesini artırır. Divalent sitrat NaDC1 için tercih edilen bir substrattır. Bu etki ile asidoz NaDC1'in aktivitesini arttırmış olur(61).

2.2.1.1.4. Fizyolojik ve patofizyolojik yönleri

NaDC1 hücrelerin oksidatif metabolizmada trikarboksilik asit (TCA) siklusu üyelerinin hücre içine alınmasında önemli bir yeri vardır. Bu nedenden dolayı NaDC1 böbrek ve ince bağırsak gibi dokularda bol miktarda eksprese edilmektedir(62). NaDC1' in bağırsaktaki görevi sitrik asit süklüsünün elemanlarını emiliminin ilk basamağını oluşturur(63). İlginçtir ki NaDC'in fonksiyonel önemi idrardaki dikarboksilat atılımının artmasıyla kanıtlanmıştır(62).

Üriner sitrat kalsiyum iyonları ile kompleks oluşturarak böbrek taşlarının oluşmasına engel olmaktadır. Üriner süpersaturasyon ve kalsiyum tuzlarının çökmesinde NaDC1

patofizyolojik rol oynar. Böbrek taşında majör faktör hipositraturidir ve bu durum birkaç klinik ve genetik faktörlerle ilgilidir(51).

Fiziksel egzersiz ve hayvansal gıdalardan ağır diyet, kronik potasyum tüketilmesi ve klinik tedavilere bağlı gelişen metabolik asidoz hipositraturinin ana faktörüdür. Klinik olarak immünsüprese olan ilaçlardan, örneğin siklosporin A ve takrolimus hipositraturü yaparak böbrek taşı oluşumuna sebep olur(51). Genetik olarak insan SLC13A2 polimorfizmi I550V hipositraturü ve taş oluşumu ile ilişkili bulunmuştur(64). Bu ve benzer genetik bozukluklar NaDC1'in fonksiyon ve ekspresyonunu azaltarak renal taş oluşumuna yol açar(65).

Vitamin D allel reseptör varyantları hipositraturü ile ilişkili bulunmuştur. Ekstraselüler kalsiyumun opossum böbrek proksimal tübül (OKP) hücrelerinde NaDC transport sistemi üzerinden sitratın transportunu regüle edebilir(66).

2.2.1.1.5. Terapötik yönleri

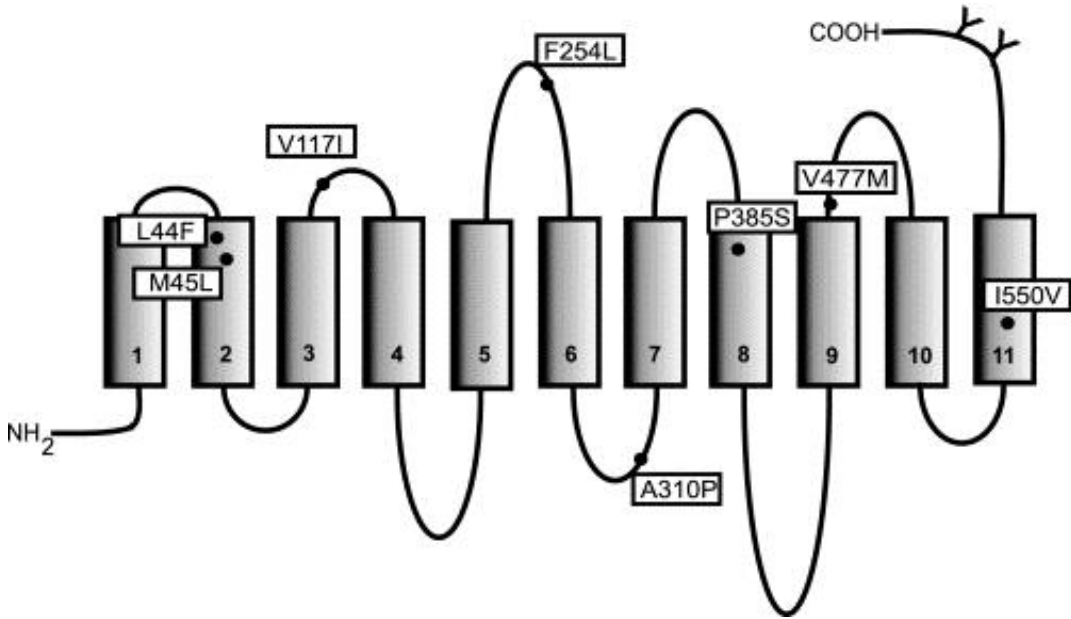
Üriner sitrat atılımı ve kalsiyum taşı oluşumu arasındaki ilişki çoktan beri bilinmektedir(67). Normal şartlar altında sitrat üriner sistemde en çok bulunan organik asittir ve kalsiyumun oksalat yerine sitrata bağlanarak taş oluşumunu engeller. Hipositraturü renal taş hastalarının % 60'ında raporlanmıştır(67). NaDC1'i böbrek proksimal tübül hücrelerinin apikal kısmından sitrat reabsorpsiyonunu sağlayarak üriner sitrat konsantrasyonu belirler. NaDC1'in inhibisyonu üriner sitratın atılımını artırır. Günümüzde NaDC1'in bilinen spesifik bir inhibitörü yoktur. Bazı bilinen düşük afiniteli inhibitörlerin NaDC1 fonksiyonunu etkilediği görülmüştür. Örnek olarak floretin, flufenamate (nonsteroidal antiinflamatuvar) ve furosemid (diüretik) NaDC1 transport fonksiyonlarını inhibe ederler(56, 68). Flufenamate ile yapısal olarak ilişkili olan anthranilik asid türevlerinin NaDC1 fonksiyonlarını daha yüksek afinite ile inhibe ettiği gösterilmiştir(68).

Pajor ve Sun (2010) tek nükleotid polimorflarının NaDC1 taşıyıcısının ekspresyon ve fonksiyonlarının üzerindeki etkilerini COS 7 hücrelerini çalışarak ortaya koymuşlardır. Lityumun NaDC1 üzerinde inhibe edici etkisi vardır. 1550V varyantında ise lityumun artmış sensitivite etkisi görülmektedir. Buna rağmen bu varyantta protein yapısında değişme izlenmemiştir. L44F varyantında ekspresyon ve fonksiyon üzerine etkisi izlenmemiştir. M45L, V117I ve F245L varyantlarında transport aktivitesi azalarak membranın protein miktarının azalmasına neden

olmuştur. En hasar verici varyant V477M olup süksinat ve Na^+ afinitesini azaltmıştır. Bu varyant lityuma yüksek afinite göstermektedir. Bütün bu mutasyonların hücre içi yapılan çalışmalarda sitrik asit elemanlarının absorpsiyonunu azalttığı gözlenmiştir(65).

SLC13A2 geninde 125 nükleotidin 8'inde missense mutasyonlar sonucu tek nükleotid polimorflar belirlenmiştir. Şekil 3 bu varyanların kod hatalarının lokalizasyonlarını göstermektedir(65).

Şekil 3. hNaDC1 yapısı ve varyantlardaki kod hatalarının lokalizasyonu



(Pajor AM, Sun NN. Single nucleotide polymorphisms in the human Na^+ -dicarboxylate cotransporter affect transport activity and protein expression. American Journal of Physiology-Renal Physiology. 2010;299(4):F704-F711.)

8 varyantın 4'ünde (M45L, A310P, P385S, V477M) hem protein ekspresyonunu hem de fonksiyonunu etkilemektedirler. M45L varyantında allel sıklığı fazla ilen V477M varyantında allel sıklığı nadir görülür (Tablo 4) . Bunların arasında NaDC1 transport fonksiyonunu en çok etkileyen polimorfizm V477M varyantıdır. V477M protein kaybı yapmadan süksinat transport aktivitesini %90 oranda azaltır. Bu varyant varlığında transportörün süksinat ve Na^+ afinitesi azalmıştır. Buna rağmen lityum varlığında süksinatın transportu iki katından daha fazla artar(65).

Tablo 3. hNaDC1 (*SLC13A2*) gen mutasyonlarının neden olduğu polimorfizmler

Amino Asit Mutasyonu	Allel	Lokasyon	Allel sıklığı	dbSNP ID
L44F	C→T	Exon 2	0.028	rs45443898
M45L	A→C	Exon 2	0.344	rs16964363
V117I	G→A	Exon 3	hesaplanamadı	rs11568463
F254L	T→C	Exon 6	hesaplanamadı	rs11568461
A310P	G→C	Exon 7	0.004	rs11568441
P385S	C→T	Exon 8	0.007	rs45546232
V477M	G→A	Exon 10	0.004	rs11568476
I550V	A→G	Exon 12	0.50	rs11567842

Allele frequency is from the NCBI dbSNP database (www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP).

hNaDC1 geninin 8 varyantının fonksiyon ve protein varyantı üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu varyanların bazılarında transport aktivitesinin azaldığı bazılarında ise protein ekspresyonlarının azalması veya substrak selektivitesin azalmış olduğu izlendi. Bu polimorfizmlerde böbrek ve barsaklardan sitrik asit siklus elemanlarının azalması sonucu bu elemanların idrar ile atılımının artmış olduğu izlendi. NaDC1'in varyantlarının hipositratriye bağlı gelişen nefrolityazisin sonucu olmaktan çok, NaDC1 proteininin aşırı üretiminin sonucu olabileceği düşünülmüştür. Yine de tam olarak açıklanamamıştır(65).

3. GEREÇ ve YÖNTEM:

3.1.Hastalar ve Araştırma Prosedürü

Bu araştırma Mart 2015 ve Haziran 2015 tarihleri arasında Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'nda, poliklinikte böbrek taşı tanısı konulan hastalardan bilgilendirilmiş yazılı onam alınarak katılımı sağlanan gönüllü bireyler ile yapıldı. Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'nda polikliniğine başvuran üriner sistem taşı olan hastalar, klinik endikasyonlarına göre rutin tetkik ve tedavi işlemleri yapıldı. Hastalar uygun tedaviler ile taşlardan tamamen temizlenmeye

çalışıldı. Tedavi neticesinde elde edilen taş örnekleri X-ışını kırınım kristalografisi yöntemi ile incelenerek kalsiyum içerikli taşlara sahip hastalar saptandı. Taş analizlerinde sonucuna göre 90 tane kalsiyum içerikli taşı olan hasta çalışmaya dahil edildi. Hastalar 24 saatlik idrarda sitrat düzeylerine göre normal olan 38 hasta ve düşük olan 52 hasta olmak üzere iki gruba ayrıldı. Normositratürik gruptaki toplam hastaların %47,4 kadın, %52,6'sı ise erkek idi. Hastaların yaş aralığı 16-71 yıl olarak saptandı. Hipositratürik hasta grubunda ise toplam hastaların %40,4 erkek, %59,6'sı ise kadın idi. Hastalar önceden bilgilendirilerek çalışma süresince kırmızı et, tuzlu gıdalar, çikolata, yapraklı bitkiler, çay ve kahve gibi ürünlerin aşırı tüketmemeleri konusunda uyarıldı. 90 hastanın tamamına standart klinik yaklaşımın bir parçası olarak metabolik taş evaluasyonu amaçlı serum kreatinin, sodyum, potasyum, kalsiyum ve ürik asit, tam idrar tetkiki (TİT), idrar kültürü ve 24 saatlik idrarda sitrat, okzalat, ürik asit, kalsiyum ve magnezyum parametrelerinin ölçümleri yapıldı. 24 saatlik idrarda sitrat ve oksalat için idrar pH'sının <3 olacak şekilde 10N hidrojen klorür eklenmiş plastik kaplarda toplatıldı. 24 saat içinde çalışılmayacak olan idrar örnekleri -20 °C'de donduruldu. Toplanan 24 saatlik idrar örneklerinde sitrat, okzalat, ürik asit, kalsiyum ve magnezyum düzeyleri Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi biyokimya laboratuvarında "Ben Biochemical Enterprise™, Milano/İtalya (katalog no: CI8820)" ticari kitleri ile fotometrik yöntem kullanılarak ölçüldü. SLC 13A2 geni rs11568476 mutasyonu analizi yapılmak üzere 1 adet Na-EDTA'lı hemogram tüpüne kan alınarak -40°C sıcaklıkta saklandı. Na-EDTA'lı hemogram tüpüne alınan bu kanlar Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Genetik Laboratuvarında çalışılmak üzere gönderildi.

Biz bu çalışmada Na⁺ di ve tri karboksilat taşıyıcılarını kodlayan SLC 13A2 gen polimorfizmini araştırmayı planladık. Bu amaçla hastalardan herhangi bir sistemik hastalığı olanlar (Esansiyel hipertansiyon hariç), kalsiyum dışı böbrek taşı olanlar, asit-baz dengesini etkileyebilecek herhangi bir tedavi alanlar, diüretik tedavisi alanlar, kalsiyum veya C vitamini desteği alan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Kalsiyum içerikli böbrek taşı saptanan hastalardan hipositratürik olanları çalışma grubu, hipositratürik olmayanları ise kontrol grubu olarak araştırmaya dahil edildi.

Hastaların detaylı bir anamnez alınarak aile öyküsünün olup olmadığı, daha önce böbrek taşı düşürüp düşürmediği, böbrek taşına yönelik herhangi bir tedavi

(cerrahi-medikal) alıp almadığı, sistemik veya metabolik bir hastalığının olup olmadığı sorgulandı, vücut ağırlığı ve boyları ölçüldü.

Bu araştırmaya dahil edilen gönüllülere SLC 13A2 geni rs11568476 mutasyonu analizi yapmak amaçlı alınan ek 1 tüp hemogram kan örneği haricinde yapılan tüm işlemler rutin klinik yaklaşımda yapılması gereken işlemler olup, bunun dışında ilave bir tetkik ve işlem yapılmamıştır. Bu işlemler için hastalardan yazılı onam formu alındı. Çalışma Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nın Moleküler Genetik Laboratuvarında yapıldı.

Genetik Analiz

Na-EDTA'lı hemogram tüpüne alınan kan örnekleri DNA izolasyon kiti (High Pure PCR Template Preparation Kit-Roche™) yardımı ile DNA izolasyonu yapıldı.

DNA izolasyonu ile elde edilen genomik DNA'lar ile Real Time PCR'da (Light Cycler480 II™) ilgili polimorfizmi kapsayan primerler ve uygun proplar ile analiz yapıldı. Light Cycler 480 II Real-Time PCR cihazı ile hasta ve kontrol kişilerinin genotipleri belirlendi.

PCR Şartları

10.4 µl PCR grade water (H₂O)

1.0 µl Reagent Mix (LightSNiP SLC13A2)

2.0 µl FastStart DNA master Hybprobe (Roche Diagnostics™)

1.6 µl MgCl₂ (25mM) ve 5.0 µl DNA

Hazırlanan miks her bir test için mikropate kuyucuklarına (15 µl olarak) dağıtıldı. Mikropate santrifüj edildi ve Light Cycler480 cihazına (Real Time PCR) yerleştirilerek analiz başlatıldı.

T_m değeri (melting temperature) esas alınarak oluşan piklerin değerlendirilmesi ile çalışmanın analizi yapıldı. Her bir örnek analiz neticesine göre wild type (yabanıl tip, AA), heterozigot tip (AG) ve homozigot (GG) tip olarak değerlendirildi.

3.2.İstatistiksel İncelemeler

Elde edilen veriler ve araştırma sonuçları Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 15.0 (SPSS Inc.,Chicago, IL; USA) paket programına yüklendi. Çalışmada elde edilen verilere ait tanımlayıcı değerler ortalama, medyan, standart sapma, minimum, maksimum olarak verildi. İki grup numeri değişkenler açısından Student t-testi; cinsiyet ve aile hikayesi gibi nominal ve ordinal değişkenler açısından Pearson ki-kare testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. İstatistik anlamlılık düzeyi olarak 0.05 baz alınmış olup, bunun altındaki değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4- BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen hastalar 24 saatlik idrarlarındaki sitrat miktarına göre; hipositraturik ve normositraturik olmak üzere iki gruba ayrılan hastaların yaş, kilo ve boy ölçümleri sonuçları tablo 4’de özetlenmiştir. Yaş ortalaması normositraturik grupta 44.16 (16-71), hipositraturik grupta ise 45,13 (22-70) yıl olarak hesaplandı. Gruplar arasında yaş dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0.732$). Normositraturik grupta boy ortalaması 169 cm, hipositraturik grupta ise 168,8 cm olarak hesaplandı. İki grup arasında boy ölçümleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p=0.894$). Normositraturik grupta ağırlık ortalaması 75.53 kg, hipositraturik grupta ise 76.33 kg idi. Gruplar arasında vücut ağırlığı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p=0.705$).

Tablo 4. Yaş, boy ve vücut ağırlığı ölçümleri

	Gruplar	N	Ortalama	Standart Sapma	P *
Yaş (yıl)	Normositraturi	38	44,16	13,52181	0,732
	Hipositraturi	52	45,13	13,21323	
Boy (cm)	Normositraturi	38	169,00	6,88516	0,894
	Hipositraturi	52	168,80	6,63336	
Kilo (kg)	Normositraturi	38	75,53	9,50885	0,705
	Hipositraturi	52	76,33	10,13385	

(*)Student t-testi

Normositratürik ve hipositratürik grupların cinsiyet ve böbrek taş hastalığı aile öyküsü bilgileri tablo 5’te görülmektedir. Normositratürik grup 18 kadın, 20 erkekten; hipositratürik grup ise 21 kadın, 31 erkekten oluşmakta idi. İki grup arasında cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı ($p=0.509$). Aile hikayesi normositratürik grupta 23 hastada, hipositratürik grupta ise 19 hastada mevcut idi. Aile hikayesi olmayanlarda hipositratürik olanlar normositratürik olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur. Aile hikayesi olanlarda ise normositratürik olanlar hipositratürik olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p=0.024$)

Tablo 5. Cinsiyet dağılımı ve aile öyküsü pozitifliği

		Normositratüri		Hipositratüri		P*
		Sayı	%	Sayı	%	
Cinsiyet	Kadın	18a	47,4%	21a	40,4%	0.509
	Erkek	20a	52,6%	31a	59,6%	
Aile Hikayesi	Yok	15a	39,5%	33b	63,5%	0.024
	Var	23a	60,5%	19b	36,5%	

(*)Pearson ki-kare testi

Tablo 6’da hastaların kan biyokimya ve idrar pH ve dansite değerlerinin istatistiksel analizi bulunmaktadır. Serum kreatinin değeri ortalaması normositratürik grupta 0.86 mg/dl, hipositratürik grupta ise 0.91 mg/dl olarak belirlenmiştir. Gruplar arasında kreatinin ölçümleri açısından istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmedi ($p=0,320$). Kan ürik asit düzeyi ortalaması normositratürik grupta 4.12 mg/dl, hipositratürik grupta ise 5.08 mg/dl’dir ve istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. İki grup arasında kan ürik asit değerleri karşılaştırıldığında hipositratürik olanlar normositratürik olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur ($p=0.002$). Kan kalsiyum ortalama değeri normositratürik grupta 10.22 mg/dl, hipositratürik grupta ise 9.24 mg/dl’dir. İki gruptaki kan kalsiyum ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.143$). İdrar dansitesi ortalaması normositratürik grupta 101,95 hipositratürik grupta ise 1016,11 olarak hesaplandı. Gruplar arasında idrar dansitesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ($p = 0.520$). İdrar

pH ortalaması normositratrik grupta 5.49, hipositratrik grupta 5.65'dir. Gruplar arasında idrar pH ölçümleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0.363).

Tablo 6. Kan biyokimyası ve idrar bulguları

	Gruplar	N	Ortalama	Standart Sapma	P *
Kreatinin (mg/dl)	Normositratri	38	0,86	0,169	0,320
	Hipositratri	52	0,91	0,274	
Ürik Asit (mg/dl)	Normositratri	38	4,12	1,14471	0,002
	Hipositratri	52	5,08	1,57746	
Kalsiyum (mg/dl)	Normositratri	38	10,22	3,98190	0,143
	Hipositratri	52	9,34	1,41191	
İdrar Dansite	Normositratri	38	1016,95	6,24693	0,520
	Hipositratri	52	1016,11	5,88002	
İdrar pH	Normositratri	38	5,49	0,79259	0,363
	Hipositratri	52	5,65	0,89956	

(*) Student t-testi

Tablo 7'da 24 saatlik idrar analiz sonuçları (idrar volümü, sitrat, okzalat, ürik asit, kalsiyum, magnezyum) gösterilmektedir. Normositratrik grubun idrar volümü ortalaması 2308,42 ml, hipositratrik grupta ise 2112,31 ml idi. Ancak, gruplar arasındaki idrar volümü farkı istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı (p=0.290). Normositratrik grupta 24 saatlik idrar sitrat düzeyi ortalaması 750,18 mg/1.73 m²/24 saat, hipositratrik grupta ise 155,31 mg/1.73 m²/24 saat olarak hesaplandı. İki grup arasında 24 saatlik idrar sitrat değerleri karşılaştırıldığında hipositratrik olanlar normositratrik olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur (p<0.0001). Normositratrik grupta 24 saatlik idrarda okzalat ölçümü ortalaması 39.66 mg/1.73 m²/24 saat, hipositratrik grupta ise 32.97 mg/1.73 m²/24 saat olarak hesaplandı. Gruplar arasında okzalat ölçümü açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0,097). Ürik asit ölçümü normositratrik grupta ortalama 23.10 mg/dl, hipositratrik grupta ise 24.48 mg/dl hesaplandı. Gruplar arasında ürik asit ölçümleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0.574). Kalsiyum ölçümü normositratrik grupta ortalama 9.63 mg/dl, hipositratrik grupta ise 10,13 mg/dl

olarak hesaplandı ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi (p=0.652).

Magnezyum ölçümü normositratürik grupta ortalama 4.76 mg/dl, hipositratürik grupta ise 5,04 mg/dl hesaplandı. Gruplar arasında magnezyum ölçümü açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0.576).

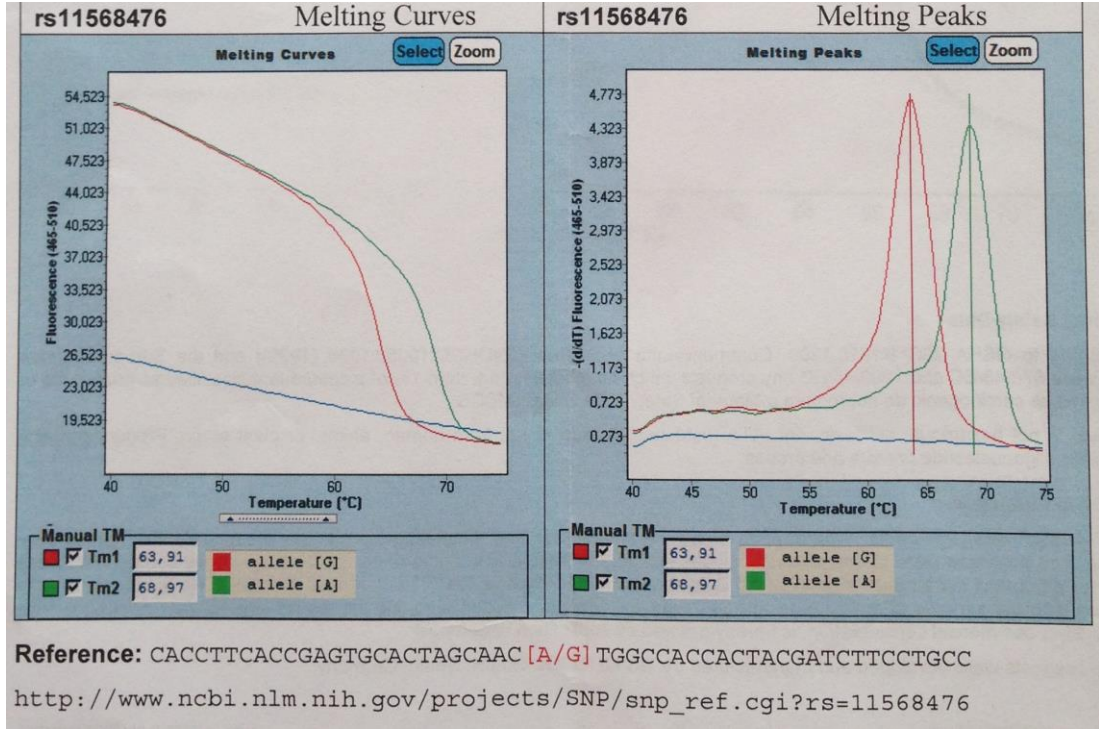
Tablo 7. 24-saat idrar analizleri

	Gruplar	N	Ortalama	Std. Sapma	P *
Volüm (ml)	Normositratüri	38	2308,42	753,11076	0,290
	Hipositratüri	52	2112,31	933,95977	
Sitrat (mg/1.73 m²/24 saat)	Normositratüri	38	750,18	238,12657	<0,0001
	Hipositratüri	52	155,31	86,81094	
Okzalat (mg/1.73 m²/24 saat)	Normositratüri	38	39,66	19,614	0,097
	Hipositratüri	52	32,97	17,971	
Ürik Asit (mg/dl)	Normositratüri	38	23,10	9,743	0,574
	Hipositratüri	52	24,48	12,556	
Kalsiyum (mg/dl)	Normositratüri	38	9,63	5,13494	0,652
	Hipositratüri	52	10,19	6,14514	
Magnezyum (mg/dl)	Normositratüri	38	4,76	2,30479	0,576
	Hipositratüri	52	5,04	2,27891	

(*)Student t-test

Yaptığımız çalışma neticesinde Na⁺ di ve tri karboksilat transpotırlarındaki (NaDC) proteinleri kodlayan SLC 13A2 geninin V477M varyantının rs11568476 mutasyonunun varlığı araştırıldı. Şekil 4'te, hasta gruplarında SLC 13A2 geni, rs11568476 homozigot mutasyon (GG) referans değerleri görülmektedir. Tablo 8'de 90 hastadan 26 tanesinin sonuçları görülmektedir. Şekil 5'da ise bu 26 hastanın sonuç grafikleri görülmektedir. Netice olarak normositratürik ve hipositratürik gruptaki toplam 90 hastanın hiçbirisinde SLC 13A2 geni, rs11568476 mutasyonu saptanmamıştır.

Şekil 4. SLC 13A2 geni, rs11568476 homozigot (GG) mutasyonu, referasn değerleri



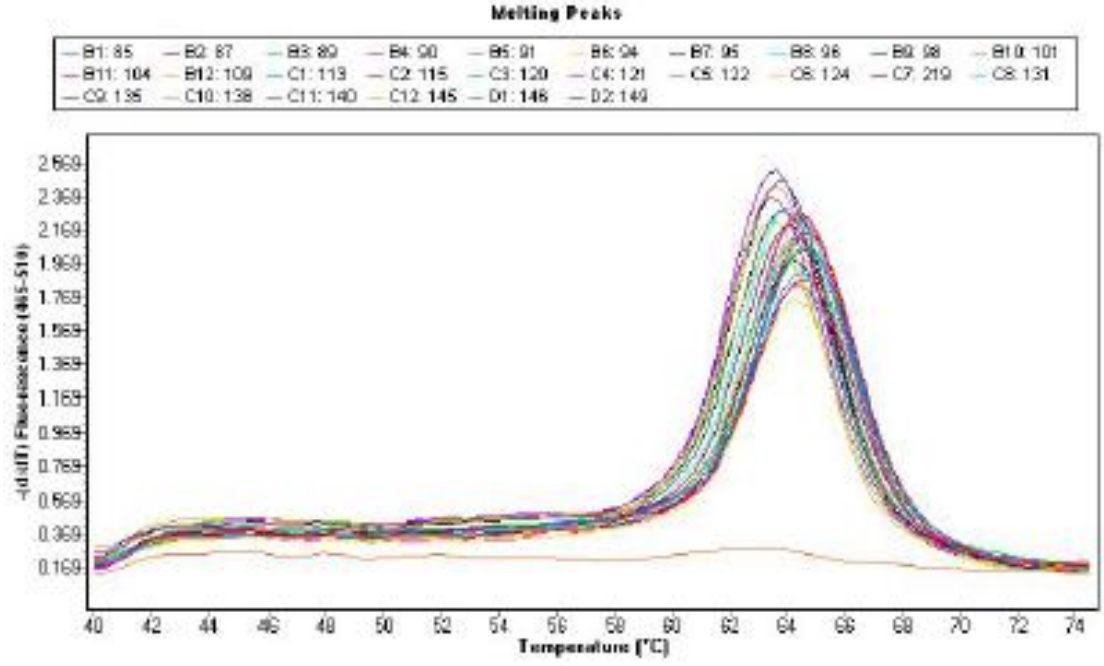
Tablo 8. SLC 13A2 geni, rs11568476 homozigot (GG) mutasyonu, hasta sonuçları
Tm Calling for 2015.08.18 SLCA13A 26 HST (2) (Tm Calling)

Results

Inc	Pos	Sample Name	Peak 1				Peak 2				Status
			Tm	Area	Width	Height	Tm	Area	Width	Height	
☒	B1	85	64.65	9.17	4.83	1.90					
☒	B2	87	64.71	8.98	4.77	1.88					
☒	B3	89	64.41	9.43	4.74	1.99					
☒	B4	90	64.43	7.71	4.82	1.60					
☒	B5	91	64.48	8.95	4.72	1.90					
☒	B6	94	64.41	7.33	4.73	1.55					
☒	B7	95	64.33	8.38	4.74	1.77					
☒	B8	96	64.19	10.03	4.81	2.09					
☒	B9	98	63.96	9.31	4.59	2.03					
☒	B10	101	63.12	0.36	3.39	0.11					*
☒	B11	104	63.64	9.77	4.65	2.10					
☒	B12	109	63.77	8.48	4.68	1.81					
☒	C1	113	64.56	8.13	4.81	1.69					
☒	C2	115	64.49	9.65	4.78	2.02					
☒	C3	120	64.63	8.69	4.82	1.80					
☒	C4	121	64.44	9.49	4.76	1.99					
☒	C5	122	64.36	8.88	4.75	1.87					
☒	C6	124	64.24	8.65	4.79	1.81					
☒	C7	219	64.16	9.18	4.71	1.95					
☒	C8	131	64.18	8.33	4.72	1.77					
☒	C9	135	63.96	10.75	4.77	2.26					
☒	C10	138	63.72	10.00	4.62	2.16					
☒	C11	140	63.67	10.35	4.61	2.25					
☒	C12	145	63.61	9.05	4.60	1.97					
☒	D1	146	64.67	8.68	4.84	1.80					
☒	D2	149	64.57	7.85	4.84	1.62					

* - Manually edited

Şekil 5. SLC 13A2 geni, rs11568476 homozigot (GG) mutasyonu, hasta sonuç grafikleri



5- TARTIŞMA

Üriner sistem taş hastalığı (ÜSTH); antik çağlardan beri bilinmesine rağmen modern toplumun en sık karşılaşılan problemlerlerinden biri olmaya devam etmektedir(1). Üriner sistem hastalıkları içinde prostat patolojileri ve enfeksiyonlardan sonra üçüncü sıklıkla yer almaktadır(2).

Türkiye, “taş kuşağı” olarak adlandırılan belirgin bir coğrafi kuşakta yer aldığı için böbrek taşları sık görülür(3). Ancak, ülkemizde önemli çalışmalar yapılmış olmakla birlikte, etiyopatogenez hakkında bilgi henüz yetersizdir(3-7)

Böbrek taş hastalığının önemli sorunlarından biri de toplum için oluşturduğu maliyettir. Amerika Birleşik Devletleri’nde (ABD) 2000 yılında yapılmış bir çalışmada, bu hastalar için uygulanan tedavi giderleri 2,1 milyar dolar olarak hesaplanmıştır(1). ÜSTH’nın girişimsel tedavi yöntemlerindeki gelişmeler hastalıkla ilgili morbiditeyi azaltmasına rağmen, taşın tekrarlama olasılığını engellememektedir. Girişimsel tedavilerin yüksek maliyetli olması, son 15-20 yıldır morbiditesi daha az, basit ve ucuz olması gibi önemli avantajlara sahip proflaktik tedaviye yönelimi arttırmıştır. Yapılan çalışmalar, taş oluşumunda rol alan metabolik ve çevresel faktörlerin ortaya çıkarılması ile bu faktörlere yönelik uygun tedaviler verildiğinde ÜSTH’nın tekrarlama riskinin azaltılabileceğini göstermiştir(8).

Üriner sitrat atılımı ve kalsiyum taşı oluşumu arasındaki ilişki çoktan beri bilinmektedir(67). Normal şartlar altında sitrat; üriner sistemde en çok bulunan organik asittir, kalsiyumun oksalat yerine sitrata bağlanmasını sağlayarak taş oluşumunu engeller. Hipositratüri renal taş hastalarının % 60’ında raporlanmıştır(67). NaDC1’ i böbrek proksimal tübül hücrelerinin apikal kısmından sitrat reabsorpsiyonunu sağlayarak üriner sitrat konsantrasyonu belirler. NaDC1’in inhibisyonu üriner sitratın atılımını artırır. Günümüzde NaDC1’in bilinen spesifik bir inhibitörü yoktur.

Bazı bilinen düşük afiniteli inhibitörlerin NaDC1 fonksiyonunu etkilediği görülmüştür. Örnek olarak floretin , flufenamate (nonsteroidal antiinflatuar) ve furosemid (diüretik) NADC1 transport fonksiyonlarını inhibe ederler(56, 68). Flufenamate ile yapısal olarak ilişkili olan anthranilik asid türevlerinin NADC1 fonksiyonlarını daha yüksek afinite ile inhibe ettiği gösterilmiştir(68).

Pajor ve Sun'ın (2010) tek nukleotid polimorflarının NaDC1 transportörünün ekspresyon ve fonksiyonlarının üzerindeki etkilerini COS 7 hücrelerini çalışarak ortaya konulmuştur. Lityumun NaDC1 üzerinde inhibe edici etkisi vardır. I550V varyantında ise lityumun artmış sensitivite etkisi görülmektedir. Buna rağmen bu varyantta protein yapısında değişme izlenmemiştir. L44F varyantında ekspresyon ve fonksiyon üzerine etkisi izlenmemiştir. M45L, V117I ve F245L varyantlarında transport aktivitesi azalarak membranın protein miktarının azalmasına neden olmuştur. En hasar verici varyant V477M olup süksinat ve Na⁺ afinitesini azaltmıştır. Bu varyant lityuma yüksek afinite göstermektedir. Bütün bu mutasyonların hücre içi yapılan çalışmalarda sitrik asit elemanlarının absorpsiyonunu azattığı gözlenmiştir(65).

Ocomato ve arkadaşlarının insan NaDC1 genindeki I550V polimorfizminin üriner sitrat atılımı üzerindeki etkilerini anlamak amaçlı yaptıkları çalışmada, bu polimorfizme sahip rekürren 105 böbrek taş hastası ile 107 böbrek taşı olmayan sağlıklı bireyleri karşılaştırmışlar. Toplam hastaların 92 tanesinde hipositratüri tespit etmişler. Bu 92 hastanın da 53'ü bu polimorfizme sahip hastalar, 39 tanesi de sağlıklı bireylerden olduğunu saptanmış. I550V polimorfizmi olan hastalarda idrar kalsiyum, oksalat ve ürik asit atılımı sağlıklı bireylere oranla anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır. Sitrat atılımının ise polimorfizme sahip hastalarda daha az olduğu izlenmiştir(64).

Günümüzde SLC13 ailesinin hiçbir üyesinin yüksek afinite ile bağlandığı bir inhibitörü saptanmamıştır. Şimdiye kadarki çalışmalarda non-steroidal anti-inflamatuar (NSAİ) ilaç olan flufenamatin hNaDC1 için inhibitör olduğu belirlenebilmiştir(69). Yüksek afinite gösteren inhibitörler NaDC1'nin membrandaki transport miktarını belirlemeye ve mutant transportlardaki değişiklikleri karakterize etmemize yardımcı olur(68).

Pajor ve Sun'ın (2010) yaptıkları bir çalışmada hNaDC1 geninin 8 varyantının fonksiyon ve protein varyantı üzerine etkileri araştırılmış. Bu varyantların bazılarında transport aktivitesinin azaldığı bazılarında ise protein ekspresyonlarının azalması veya substrak selektivitesin azalmış olduğu izlendi. Bu polimorfizmlerde böbrek ve barsaklardan sitrik asit siklus elemanlarının azalması sonucu bu elemanların idrar ile atılımının artmış olduğu izlendi. NaDC1'in varyantlarının hipositratüriye bağlı gelişen

nefrolityazisin sonucu olmaktan çok, NaDC1 proteininin aşırı üretiminin sonucu olabileceği düşünülmüştür. Yine de tam olarak açıklanamamıştır(65).

Hipositratürinin genetik temeli henüz aydınlatılamamıştır. Düzenli portakal ve limon gibi turunçgiller yenmesi, oral replasman tedavisi ile hipositratürinin düzeltilebiliyor olması çevresel faktörlerin de en azından etyolojide rol alabileceğini düşündürmektedir(70).

Tekin ve arkadaşları idiyopatik böbrek kalsiyum taş hastalığı olan çocuklar ile normal bireylerde karşılaştırmalı olarak metabolik evaluasyon sonucunda; hastaların %64'ünde üriner sitrat atılım yetersizliği bulunurken, okzalat atılımı ise %55'inde normalden yüksek bulunmuştur. Böbrek kalsiyum taş hastalığı olan bir hastanın hipositratürik olma riski kontrol gurubundaki bireylere göre 4.3 kat, hiperokzalüri riski ise 3 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir(4, 6). Yapılan bu araştırma neticeinde hipositratürik kalsiyum taşlı çocuk hastalara 22 ay boyunca oral potasyum sitrat tedavisi uygulanmış. 22 aylık takip sonunda sonunda günlük üriner sitrat atılımı 197 mg/1.73 m²'den 632 mg/1.73 m²'ye yükselmiş, böbrek taşı rekürrens hızı ise yıllık %32'den %17'ye gerilemiştir(6). Bu çalışmalar beraber değerlendirildiğinde hipositratürinin; böbrek taş hastalığında önemli bir etiyolojik risk faktörü olduğunu, replasman tedavisi ile düzeltilebileceğini göstermektedir. Yine bu iki çalışma sitrat replasman tedavisinin hipositratüri ile ilişkili kalsiyum taş hastalığı medikal tedavi olarak kabul edilmesine temel oluşturmuştur(4, 6).

Esen ve arkadaşlarının 184 üriner sistem taşı olan hastalar üzerinde yaptıkları bir çalışmada hipositratüri oranını %44 olarak bildirmişlerdir. Hastalara yaklaşık 13.5 aylık izlem süresince uygulanan sitrat replasman tedavisi sonrası hastaların %90'ında idrar sitrat düzeylerinin normal seviyeye ulaştığı ve böbrek taşı görülme sıklığının da gerilediğini bildirmişlerdi(5).

Hipositratüri ile böbrek kalsiyum taşları arasındaki bilinen ilişkinin aksine yapılan bir çalışmada idiyopatik kalsiyum böbrek taşı olan hastalarla, sağlıklı bireyleri hipositratüri açısından benzer bulmuştur (71).

Okamoto ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada rekürren kalsiyum içerikli böbrek taşı olan hastalar ile böbrek taşı olmayan sağlıklı bireyler SLC13A2 gen polimorfizmini araştırmışlardır. Böbrek taşı olan ve olmayan bireyler; normositratürik ve hipositratürik olmak üzere iki guruba ayrılmıştır. Hipositratüri

oranı sağlıklı bireylerde %36 oranında saptanırken, hasta grubunda bu oran %51 olarak hesaplanmıştır. hNaDC-1'in 12 eksonundaki SNP'de izölosin-valin değişimi meydana gelmiş ve SNP'deki B alleleri üriner sitrat atılımını azaltmıştır. BB genotipi, taş hastası olan hipositarürik grupta, normal hipositratürik grubuna göre daha fazla saptanmıştır. Sonuç olarak bu çalışmada SLC13A2 polimorfizminin hipositratüriyi arttırdığı sonucuna ulaşılmıştır(64).

Hipositratürinin genetik temelleri hakkında çok az literatür bilgisi mevcuttur(64). Renal tübüllerde sitrat atılımında rol oynayan bir enzim olan Na⁺ di ve tri karboksilat taşıyıcılarını kodlayan SLC 13A2 genindeki polimorfizmin hipositratüriye neden olabileceği düşünülmektedir(51).

SLC13A2 geninin ~ 125 nükleotidin 8'inde missense mutasyonlar sonucu tek nükleotid polimorflar belirlenmiştir(65). 8 varyantın 4'ünde (M45L, A310P, P385S, V477M) hem protein ekspresyonunu hem de fonksiyonunu etkilemektedirler. M45L varyantında allel sıklığı fazla ilen V477M (**dbSNP ID: rs11568476**) varyantında allel sıklığı nadir görülür (Tablo 4) . Bunların arasında NaDC1 transport fonksiyonunu en çok etkileyen polimorfizm V477M varyantıdır. V477M protein kaybı yapmadan süksinat transport aktivitesini %90 oranda azaltır. Bu varyant varlığında taşıyıcının süksinat ve Na⁺ afinitesi azalmıştır(65).

Bizim yaptığımız bu prospektif çalışmada SLC13A2 genindeki alellerden bir tanesi olan rs11568476 mutasyonu bakıldı. Bu amaçla taş analizleri neticesinde, kalsiyum içerikli taşı olan 90 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastalar 24 saatlik idrardaki sitrat düzeylerine göre normal olan (38 hasta) ve düşük olan (52 hasta) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Her iki guruptan Na-EDTA'lı hemogram tüpüne alınan kanlar ile DNA izolasyonu yapıldı, PCR cihazından elde edilen veriler ile hasta ve kontrol bireylerinin genotipleri belirlendi. Normositratürik ve hipositratürik hastaların SLC13A2 geninin rs11568476 mutasyonu saptanmamıştır. Her iki gurubun tamamı homozigot (GG) tip olarak değerlendirildi.

Hipositratürik ve normositratürik hasta grupları arasında diğer metabolik evaluasyon parametreleri (kan kreatinin, kalsiyum; 24 saatlik idrarda okzalit, kalsiyum, ürik asit, magnezyum ve kreatinin düzeyi; idrar pH ve idrar dansitesi) açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Aile hikayesi olmayanlarda hipositratürik olanlar normositratürik olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur.

Aile hikayesi olanlarda ise normositratürik olanlar hipositratürik olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p=0.024$) İki grup arasında kan ürik asit değerleri karşılaştırıldığında hipositratürik olanlar normositratürik olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur ($p=0.002$).

Sonuç olarak kalsiyum içerikli böbrek taşı olan hastalarda SLC13A2 geninin rs11568476 mutasyonu ile ilgili literatür çalışması bulunmamakla birlikte hipositratüri ile genetik bozukluklar arasındaki ilişkinin kesin olarak belirlenmesi için daha fazla hasta grupları ile belirli diyet kontrolü de yapılarak SLC13A2 geninin diğer allelleri de araştırılmalıdır.

7. KAYNAKLAR

1. Wein A KL, Novick A, Partin A, Peters C. Campbell-Walsh Urology Tenth Edition. Urinary Lithiasis: Etiology, epidemiology, and pathogenesis . Campbells Urology. Company, tenth edit., 2012; Vol 2:1254-1407.
2. Stoller ML BD. Urinary Stone Disease. Smith's General Urology, (eds) Tanagho EA, Mc Aninch JW, Fourteenth Edition, Connecticut, Appleton and Lange Company, 1995; 276-304.).
3. Bakkaloglu M EY, Gündogdu N, Yılmaz O, Ataman G, Remzi D,. Üriner sistem taşının kristalografik analizi. Hacettepe Tıp Dergisi. 1985; 18:69-82.
4. Tekin A. TS, Atsu N., Sahin A., Ozen H., Bakkaloglu M. A study of the etiology of idiopathic calcium urolithiasis in children: hypocitruria is the most important risk factor. The Journal of urology. 2000;164(1):162-5.
5. Akinci M, Esen T, Kocak T, Ozsoy C, Tellaloğlu S. Role of inhibitor deficiency in urolithiasis. I. Rationale of urinary magnesium, citrate, pyrophosphate and glycosaminoglycan determinations. European urology. 1990;19(3):240-3.
6. Tekin A, Tekgul S, Atsu N, Bakkaloglu M, Kendi S. Oral potassium citrate treatment for idiopathic hypocitruria in children with calcium urolithiasis. The Journal of urology. 2002;168(6):2572-4.
7. Tekin A, Tekgul S, Atsu N, Sahin A, Bakkaloglu M. Cystine calculi in children: the results of a metabolic evaluation and response to medical therapy. The Journal of urology. 2001;165(6):2328-30.
8. Dyk V. Lithogenic risk factors in normal black volunteers, and black and white recurrent stone formers. BJU international. 1999;84(3):243-8.
9. Remzi D, Cakmak F, Erkan I. A study on the urolithiasis incidence in Turkish school-age children. The Journal of urology. 1980;123(4):608.
10. Akinci M, Esen T, Tellaloglu S. Urinary stone disease in Turkey: an updated epidemiological study. 1991;20(3):200-3.
11. Matlaga BR, Assimos DG. Changing indications of open stone surgery. Urology. 2002;59(4):490-3.

12. Kim H, Jo MK, Kwak C, Park SK, Yoo KY, Kang D, et al. Prevalence and epidemiologic characteristics of urolithiasis in Seoul, Korea. *Urology*. 2002;59(4):517-21.
13. Özçelik R SN, Doran Ş, Arıdoğan İ, Bayazıt Y, Zeren S, Anafarta K,, Yaman Ö ÜSTHİAK, Gögüş O, Arıkan N,, Bedük Y TÜ, Ankara: 1998:561–603. ().
14. Van Aswegen C, Du Plessis D. Pathogenesis of kidney stones. *Medical hypotheses*. 1991;36(4):368-70.
15. San Soucie M, Surprenant CE, Fitzgerald T, Walker S. Data processor that customizes program behavior by using a resource retrieval capability. *Google Patents*; 1994.
16. McGeown M. Heredity in renal stone disease. *Clinical science*. 1960;19:465-71.
17. Resnick M, Pridgen DB, Goodman HO. Genetic predisposition to formation of calcium oxalate renal calculi. *New England Journal of Medicine*. 1968;278(24):1313-8.
18. Menon M PB, Drach GW: Urinary lithiasis: Etiology, Diagnosis, and Medical Management Campbell’s Urology. (eds) Walsh PC RA, Vaughan Jr. ED WAEeP, Pennsylvania, WB, Saunders Company 2005;Vol:4 S-. 2005.
19. Curhan GC, Willett WC, Rimm EB, Stampfer MJ. Family history and risk of kidney stones. *Journal of the american society of nephrology*. 1997;8(10):1568-73.
20. Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N. Temel Üroloji, Üçüncü Baskı, Güneş Kitabevi, 2007; 1040-1046.).
21. Ansari MS, Gupta NP, Hemal AK, Dogra PN, Seth A, Aron M, et al. Spectrum of stone composition: structural analysis of 1050 upper urinary tract calculi from northern India. *International journal of urology*. 2005;12(1):12-6.
22. Yoshida O, Okada Y. Epidemiology of urolithiasis in Japan: a chronological and geographical study. *Urologia internationalis*. 1990;45(2):104-11.
23. Hesse A, Brändle E, Wilbert D, Köhrmann K-U, Alken P. Study on the prevalence and incidence of urolithiasis in Germany comparing the years 1979 vs. 2000. *European urology*. 2003;44(6):709-13.
24. Liao L, Richardson K. The metabolism of oxalate precursors in isolated perfused rat livers. *Archives of biochemistry and biophysics*. 1972;153(2):438-48.

25. Finlayson B. Renal lithiasis in review. *Urol Clin N Am*. 1974;1:181-212.
26. Lonsdale K. Human Stones Limited studies give some details of composition, rates of growth, distribution, and possible causes. *Science*. 1968;159(3820):1199-207.
27. Herbststein F, Kleeberg J, Shalitin Y, Wartski E, Wielinski S. Chemical and x-ray diffraction analysis of urinary stones in Israel. *Israel journal of medical sciences*. 1974;10(12):1493-9.
28. Mandel N, Mandel G. Urinary tract stone disease in the United States veteran population. I. Geographical frequency of occurrence. *The Journal of urology*. 1989;142(6):1513-5.
29. Bateson E. Renal tract calculi and climate. *The Medical journal of Australia*. 1973;2(3):111-3.
30. Parry E, Lister I. Sunlight and hypercalciuria. *The Lancet*. 1975;305(7915):1063-5.
31. Wabner C, Pak C. Effect of orange juice consumption on urinary stone risk factors. *The Journal of urology*. 1993;149(6):1405-8.
32. Ljunghall S, Fellström B, Johansson G. Prevention of renal stones by a high fluid intake? *European urology*. 1987;14(5):381-5.
33. baskı.Bozkırlı BIÜsthYÜİ, I(Ed).Türk Hava Kurumu Basımevi A, 1999;S:300.
34. Goldfarb S. Dietary factors in the pathogenesis and prophylaxis of calcium nephrolithiasis. *Kidney international*. 1988;34(4):544.
35. Breslau NA, Brinkley L, Hill KD, Pak CY. Relationship of Animal Protein-Rich Diet to Kidney Stone Formation and Calcium Metabolism*. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1988;66(1):140-6.
36. Goldfarb M, Stanley. Diet and nephrolithiasis. *Annual review of medicine*. 1994;45(1):235-43.
37. Larsson L, Tiselius H. Hyperoxaluria. *Mineral and electrolyte metabolism*. 1986;13(4):242-50.
38. Colella J, Kochis E, Galli B, Munver R. Urolithiasis/nephrolithiasis: what's it all about. *Urol Nurs*. 2005;25(6):427-48.
39. Borghi L, Meschi T, Amato F, Novarini A, Romanelli A, Cigala F. Hot occupation and nephrolithiasis. *The Journal of urology*. 1993;150(6):1757-60.

40. Atan L, Andreoni C, Ortiz V, Silva EK, Pitta R, Atan F, et al. High kidney stone risk in men working in steel industry at hot temperatures. *Urology*. 2005;65(5):858-61.
41. Malek R, Boyce W. Intranephronic calculosis: its significance and relationship to matrix in nephrolithiasis. *The Journal of urology*. 1973;109(4):551.
42. Welshman S, McGeown M. The relationship of the urinary cations, calcium, magnesium, sodium and potassium, in patients with renal calculi. *British journal of urology*. 1975;47(3):237-42.
43. Khan S, Shevock P, Hackett R. In vitro precipitation of calcium oxalate in the presence of whole matrix or lipid components of the urinary stones. *The Journal of urology*. 1988;139(2):418-22.
44. Grover PK, Marshall VR, Ryall RL. Tamm-Horsfall mucoprotein reduces promotion of calcium oxalate crystal aggregation induced by urate in human urine in vitro. *Clinical Science*. 1994;87(Pt 2):137-42.
45. Boyce W, Garvey F. The amount and nature of the organic matrix in urinary calculi: a review. *The Journal of urology*. 1956;76(3):213.
46. Boyce WH. Organic matrix of human urinary concretions. *The American journal of medicine*. 1968;45(5):673-83.
47. Boyce W, King Jr J. Crystal-matrix interrelations in calculi. *The Journal of urology*. 1959;81(3):351.
48. Pearle MS and Lotan Y. Urinary lithiasis: Etiology eapIWA, Kavoussi LR NA, Partin AW and Peters CA (Eds), *Campbell-Walsh Urology*, tenth edition, Philadelphia S, 2012; p. 1254-1283.
49. Ferrandino MN PP, and Preminger GM. Evaluation and medical management of urinary lithiasis., In: Kavoussi LR NA, Partin AW and Peters CA (Eds), *Campbell-Walsh Urology*, Philadelphia S, 2012; p. 1284-1320.
50. Emeil A, Tanagho JW, McAnninch. Urinary stone disease. *Smith's General Urology*, Seventeenth Edition, 2009. 246-277.
51. Bergeron M, Cl  men  on B, Hediger M, Markovich D. SLC13 family of Na⁺-coupled di- and tri-carboxylate/sulfate transporters. *Molecular aspects of medicine*. 2013;34(2):299-312.

52. Pajor AM. Molecular properties of the SLC13 family of dicarboxylate and sulfate transporters. *Pflügers Archiv*. 2006;451(5):597-605.
53. Markovich D, Murer H. The SLC13 gene family of sodium sulphate/carboxylate cotransporters. *Pflügers Archiv*. 2004;447(5):594-602.
54. Pajor A. Molecular properties of sodium/dicarboxylate cotransporters. *Journal of Membrane Biology*. 2000;175(1):1-8.
55. Pajor A. Molecular cloning and functional expression of a sodium-dicarboxylate cotransporter from human kidney. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 1996;270(4):F642-F8.
56. Chen X-Z, Shayakul C, Berger UV, Tian W, Hediger MA. Characterization of a rat Na⁺-dicarboxylate cotransporter. *Journal of Biological Chemistry*. 1998;273(33):20972-81.
57. Pajor A, Sun N. Functional differences between rabbit and human Na⁺(+)-dicarboxylate cotransporters, NaDC-1 and hNaDC-1. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 1996;271(5):F1093-F9.
58. Meinild A-K, Loo DD, Pajor AM, Zeuthen T, Wright EM. Water transport by the renal Na⁺-dicarboxylate cotransporter. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2000;278(5):F777-F83.
59. Aruga S, Wehrli S, Kaissling B, Moe OW, Preisig PA, Pajor AM, et al. Chronic metabolic acidosis increases NaDC-1 mRNA and protein abundance in rat kidney. *Kidney international*. 2000;58(1):206-15.
60. Aruga S, Pajor AM, Nakamura K, Liu L, Moe OW, Preisig PA, et al. OKP cells express the Na-dicarboxylate cotransporter NaDC-1. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2004;287(1):C64-C72.
61. Liu L, Zacchia M, Tian X, Wan L, Sakamoto A, Yanagisawa M, et al. Acid regulation of NaDC-1 requires a functional endothelin B receptor. *Kidney international*. 2010;78(9):895-904.
62. Ho H, Ko B, Cheung A, Lam A, Tam S, Chung S, et al. Generation and characterization of sodium-dicarboxylate cotransporter-deficient mice. *Kidney international*. 2007;72(1):63-71.

63. Browne J, Sanford P, Smyth D. Transfer and Metabolism of Citrate, Succinate, α -ketoglutarate and Pyruvate by Hamster Small Intestine. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. 1978;200(1139):117-35.
64. Okamoto N, Aruga S, Matsuzaki S, Takahashi S, Matsushita K, Kitamura T. Associations between renal sodium-citrate cotransporter (hNaDC-1) gene polymorphism and urinary citrate excretion in recurrent renal calcium stone formers and normal controls. *International journal of urology*. 2007;14(4):344-9.
65. Pajor AM, Sun NN. Single nucleotide polymorphisms in the human Na^+ -dicarboxylate cotransporter affect transport activity and protein expression. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2010;299(4):F704-F11.
66. Hering-Smith KS, Schiro FR, Pajor AM, Hamm LL. Calcium sensitivity of dicarboxylate transport in cultured proximal tubule cells. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2011;300(2):F425-F32.
67. Hamm LL. Renal handling of citrate. *Kidney Int*. 1990;38(4):728-35.
68. Pajor AM, Randolph KM. Inhibition of the Na^+ /dicarboxylate cotransporter by anthranilic acid derivatives. *Molecular pharmacology*. 2007;72(5):1330-6.
69. Pajor A, Sun N. Characterization of the rabbit renal Na^+ -dicarboxylate cotransporter using antifusion protein antibodies. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 1996;271(6):C1808-C16.
70. Zuckerman JM, Assimios DG. Hypocitraturia: pathophysiology and medical management. *Reviews in urology*. 2009;11(3):134.
71. Hosking DH, Wilson JW, Liedtke RR, Smith LH, Wilson DM. Urinary citrate excretion in normal persons and patients with idiopathic calcium urolithiasis. *Drugs*. 1985;9:10.