



**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**BÖBREK VE ÜRİNER SİSTEM KONJENİTAL ANOMALİSİ**  
**(CAKUT) TANISI ALAN HASTALARDA *STAT3***  
**POLİMORFİZMLERİNİN (c.-1915C>G, c.1671C>T, c.-1-13666T>C,**  
**c.273+314A>G/T) SIKLIKLARININ BELİRLENMESİ**

**Mert POLAT**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ANKARA 2019**



**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**BÖBREK VE ÜRİNER SİSTEM KONJENİTAL ANOMALİSİ**  
**(CAKUT) TANISI ALAN HASTALARDA *STAT3***  
**POLİMORFİZMLERİNİN (c.-1915C>G, c.1671C>T, c.-1-13666T>C,**  
**c.273+314A>G/T) SIKLIKLARININ BELİRLENMESİ**

**Mert POLAT**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**DOÇ. DR. YUNUS KASIM TERZİ**

**ANKARA 2019**



T.C  
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Tıbbi Genetik Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Mert Polat tarafından yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

**Tez Savunma Tarihi:** 11/09/2019

**Tez Konusu :**“Böbrek ve Üriner Sistem Konjenital Anomalisi (CAKUT) Tanısı Alan Hastalarda STAT3 Polimorfizmlerinin (c.1915C>G, c.1671>T, c.-1-13666T>C, c.273+314A>G/T) Sıklıklarının Belirlenmesi”

**TEZ DANIŞMANI:** Doç. Dr. Yunus Kasım Terzi

**TEZ JÜRİSİ ÜYELERİ**

Prof. Dr. Zerrin Yılmaz Çelik	Başkent Üniversitesi
Doç. Dr. Yunus Kasım Terzi	Başkent Üniversitesi
Prof. Dr. Yusuf Tunca	Sağlık Bilimleri Ü. Gülhane Tıp Fak.
Doç. Dr. Deniz Torun	Sağlık Bilimleri Ü. Gülhane Tıp Fak.
Dr. Öğr. Üyesi Zihni Ekim Taşkıran	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi

**ONAY:** Bu tez, Başkent Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulunun ..12../..09../2019 tarih ve ..42-9.. Karar Sayısı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Fatma Belgin ATAÇ  
Enstitü Müdürü



BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
YÜKSEK LİSANS / DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

Tarih: 21 / 09 / 2019

Öğrencinin Adı, Soyadı : Mert Polat

Öğrencinin Numarası : 21610216

Anabilim Dalı : Tıbbi Genetik ABD

Programı : Tezli Yüksek Lisans

Danışmanın Unvanı/Adı, Soyadı : Doç. Dr. Yunus Kasım Terzi

Tez Başlığı : BÖBREK VE ÜRİNER SİSTEM KONJENİTAL ANOMALİSİ (CAKUT) TANISI ALAN HASTALARDA STAT3 POLİMORFİZMLERİNİN (c.-1915C>G, c.1671C>T, c.-1-13666T>C, c.273+314A>G/T) SIKLIKLARININ BELİRLENMESİ

Yukarıda başlığı belirtilen Yüksek Lisans/Doktora tez çalışmamın; Giriş, Ana Bölümler ve Sonuç Bölümünden oluşan, toplam 62 sayfalık kısmına ilişkin, 21 / 09 / 2019 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından *Turnitin* adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 5'dir.

Uygulanan filtrelemeler:

1. Kaynakça hariç
2. Alıntılar hariç
3. Beş (5) kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

"Başkent Üniversitesi Enstitüleri Tez Çalışması Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Usul ve Esaslarını" inceledim ve bu uygulama esaslarında belirtilen azami benzerlik oranlarına tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Öğrenci İmzası: *Mert Polat*.....

Onay

21.09.2019

*U. K. Terzi*

Öğrenci Danışmanı Unvan, Ad, Soyad,

*Doç. Dr. Yunus Kasım Terzi*

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca kıymetli bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım gerek laboratuvar çalışmalarında gerekse tez yazımı boyunca yardımlarını esirgemeyen yüksek lisans danışmanım çok değerli hocam Sayın Doç. Dr. Yunus Kasım Terzi'ye sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca vizyoner kişilikleri ile gerek derslerde gerekse ders dışında, her konuda desteklerini bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen hocalarım Sayın Prof. Dr. Feride İffet Şahin ve Sayın Prof. Dr. Zerrin Yılmaz Çelik'e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Tez çalışmamda istatistik analizleri ile tezime büyük katkısı olan Sayın Prof Dr. Ersin Ögüş'e, Uzm. Tuğçe Şençelikel'e ve Gözde Kubat'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Laboratuvar ile ilgili pek çok konuda yardımını esirgemeyen çalışmalarım boyunca bana destek olan başta Uzm. Dr. Aslı Belen Sağlam, Uzm. Kim. Esra Başyigit olmak üzere tüm Başkent Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı çalışanlarına teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim sırasında iyi ki tanıdığım dediğim değerli ağabeyim Serkan Bakır'a vermiş olduğu desteklerden dolayı teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca bana destek olan arkadaşlarım Deniz Kanat'a, Umut Arda Bayraktar'a, Zeynep Kavasoglu'na, Selin Akad'a, Mehmet Ali Aykaç'a ve Sinejan Özcan'a teşekkür ederim.

Maddi ve manevi yardımlarını hiçbir zaman benden esirgemeyen, beni her zaman destekleyen biricik annem Melahat Polat'a, canım babam Kemal Polat'a ve canım kardeşim Gamze Polat'a minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu yüksek lisans tezi Başkent Üniversitesi tarafından KA18/189 proje koduyla desteklenmiştir.

## ÖZET

Mert POLAT

### **BÖBREK VE ÜRİNER SİSTEM KONJENİTAL ANOMALİSİ (CAKUT) TANISI ALAN HASTALARDA STAT3 POLİMORFİZMLERİNİN (c.-1915C>G, c.1671C>T, c.-1- 13666T>C, c.273+314A>G/T) SIKLIKLARININ BELİRLENMESİ**

**Tıbbi Genetik Anabilim Dalı**

**Yüksek Lisans Tezi, 2019**

Konjenital böbrek ve üriner kanal anomalisi (CAKUT) embriyonik dönemde meydana gelen konjenital böbrek malformasyonlarının tamamını içerir ve tüm konjenital malformasyonların yaklaşık %20-30'unu oluşturur. CAKUT, böbrek agenezisi, böbrek displazisi, böbrek hipoplazisi, hidronefroz, hidroüreter ve vezikoüreteral reflü dahil olmak üzere idrar yolu morfogenezindeki bozukluklardan kaynaklanan yapısal malformasyonları kapsar. Şimdiye kadar CAKUT fenotipi ile ilişkili olduğu düşünülen 36 farklı gen saptandı. Bununla birlikte, CAKUT veya ekstra böbrek belirtisi olan CAKUT hastalarının sadece %20'sinde söz konusu 36 gende mutasyon tespit edildi. Bu veriler CAKUT'ta yüksek genetik heterojenitenin varlığını göstermektedir. STAT3, STAT protein ailesinin bir üyesidir. STAT protein ailesi kanser gelişimi, inflamasyonun düzenlenmesi, immün yanıt, apoptoz ve erken embriyonik gelişim gibi çok farklı mekanizmalarda görev almaktadır. STAT3'ün böbrek gelişiminde rol oynadığı ve böbrek hastalıkları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Çalışma kapsamında STAT3 geninde yer alan dört farklı tek nükleotid polimorfizminin (SNP) CAKUT tanısı alan hastalardaki görülme sıklıkları araştırıldı. Bu SNP'lerden rs1053004 genin 3' kodlanmayan bölgesinde (UTR), rs4796793 ise 5' UTR da yer alır. rs744166 ekzon 1 ve ekzon 2 arasındaki intronik bölgede, rs3816769 ise ekzon 3 ve ekzon 4 arasındaki intronik bölgede yer alır. rs744166 ve rs4796793 polimorfizmleri PZR-RFLP, ve rs1053004 ve rs3816769 polimorfizmleri ise gerçek zamanlı PZR yöntemi ile çalışıldı. Hasta ve kontrol grubunun seçimi Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi-Ankara Hastanesi Pediatrik Nefroloji Bilim Dalı ile ortak olarak gerçekleştirilmiştir. Bu tezde

KA17/341 numaralı projede kullanılan 0-18 yaş arasındaki 145 CAKUT tanılı hasta ve 128 kontrol örneği kullanıldı. İstatistik analizler, çalışmaya dahil edilen polimorfizmlerin, konjenital böbrek ve üriner kanal anomalisi (CAKUT) ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkisi olmadığını gösterdi.

Anahtar kelimeler: Konjenital böbrek ve üriner kanal anomalisi, CAKUT, STAT3, rs1053004, rs744166, rs3816769, rs4796793

## **ABSTRACT**

**Mert POLAT**

### **DETERMINATION OF THE FREQUENCY OF STAT3 POLYMORPHISMS (c.-1915C>G, c.1671C>T, c.-1-13666T>C, c.273+314A>G/T) IN PATIENTS WITH KIDNEY AND URINARY SYSTEM CONGENITAL ANOMALY (CAKUT)**

**Department of Medical Genetics**

**Master's Thesis, 2019**

Congenital anomalies of the kidney and urinary tract (CAKUT), collectively refers to various structural malformations characterized by renal developmental disorders in the embryonic period and this malformation accounts for approximately 20-30% of all congenital malformations. CAKUT includes various structural malformations resulting from abnormalities in the morphogenesis of the urinary tract, including renal agenesis, renal dysplasia, renal hypoplasia, hydronephrosis, hydroureter, and vesicoureteral reflux. Currently, 36 genes found to be related to CAKUT phenotype. However, only 20% of CAKUT patients have mutations in these 36 genes. These data indicate the presence of high genetic heterogeneity in CAKUT.

*STAT3* is a member of the STAT protein family. The members of this protein family have roles in different cellular mechanisms such as cancer, inflammation, immune response, apoptosis, and early stage of embryonic development. It has been shown that *STAT3* plays a role in kidney development and is associated with renal diseases. In this study, four different single nucleotide polymorphisms (SNP) localized in the *STAT3* gene was investigated in patients diagnosed with CAKUT. rs1053004 is located in the 3' untranslated region (UTR) of the gene and rs4796793 is located in the 5' UTR. rs744166 is located in the intronic region between exon 1 and exon 2, and rs3816769 is in the intronic region between exon 3 and exon 4. We used PCR-RFLP method for the analyses of rs744166 ve rs4796793, and melting curve analyses for rs1053004 and rs3816769.



The selection of the patient and control groups was made in collaboration with Başkent University Faculty of Medicine Department of Pediatric Nephrology. In this study, we used previously isolated DNA samples (From KA17/341). Total of 145 CAKUT patients between 0-18 years old, and 128 control individuals enrolled in this study. As a result of statistical analysis, no polymorphism was found to be related to congenital anomalies of the kidney and urinary tract (CAKUT).

Keywords: Congenital anomalies of the kidney and urinary tract, CAKUT, STAT3, rs1053004, rs744166, rs3816769, rs4796793

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ONAY SAYFASI .....	iii
TEŞEKKÜR .....	v
ÖZET .....	vi
ABSTRACT .....	viii
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Üriner Sistem Anatomisi .....	3
2.1.1. Böbrek .....	3
2.1.2. Üreter .....	4
2.1.3. Mesane .....	4
2.1.4. Üretra .....	4
2.2. Doğumsal Böbrek Anomalileri .....	5
2.3. Nefrogenез ve ÇAKUT İlişkisi .....	10
2.4. STAT3 Geninin Böbrek Üzerindeki Etkisi .....	13
2.5. STAT3 Geni .....	15
2.5.1. STAT3 geni polimorfizmleri .....	17
2.6. Polimorfizm .....	18
2.6.1. Tek nükleotid değişimi .....	18
2.6.2. Protein oluşumu üzerine SNP'lerin etkileri .....	19
2.7. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) .....	19
2.8. Restriksiyon Fragmanı Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) .....	20
2.8.1. Restriksiyon endonükleazlar .....	20
2.9. Real Time PCR (Erime Eğrisi - <i>Melting Curve</i> - Analizi) .....	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	22
3.1. Etik Kurul Onayı .....	22
3.2. Hasta Grubu .....	22
3.3. Yöntem .....	22
3.3.1. Kullanılan kimyasal malzemeler .....	23
3.3.2. Kullanılan alet ve cihazlar .....	23
3.3.3. DNA örnekleri .....	24
3.3.3.1. DNA izolasyon yöntemi .....	24
3.3.3.2. DNA'nın konsantrasyon ve saflığının ölçümü .....	25
3.3.4. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) .....	25
3.3.5. Restriksiyon fragmanı uzunluk polimorfizmi (RFLP) .....	27
3.3.6. Jel elektroforezi .....	28
3.3.7. Real time PZR ( <i>Melting Curve</i> ) .....	30
3.3.8. İstatistiksel analiz .....	31
4. BULGULAR .....	33

5. TARTIŞMA.....	45
5.1. STAT3 (c.1671C>T) rs1053004 Polimorfizmine Ait Bulgular .....	47
5.2. STAT3 (c.-1915C>G) rs4796793 Polimorfizmine Ait Bulgular .....	48
5.3. STAT3 (c.-1-13666T>C) rs744166 Polimorfizmine Ait Bulgular .....	48
5.4. STAT3 (c.273+314A>G/T) rs3816769 Polimorfizmine Ait Bulgular.....	49
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	51
7. KAYNAKLAR .....	52
8. EKLER.....	58
Ek A: Hastaların Cinsiyet, Yaş, Endikasyon Bilgileri .....	58

## KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ

AKI: Akut Böbrek Hasarı

bç: Baz çifti

CAKUT: Konjenital böbrek ve üriner kanal anomalisi

CNV: Kopya sayısı varyasyonu

DBD: DNA bağlama bölgesi

DNA: Deoksiribonükleik Asit

dNTP: Deoksiribonükleotit trifosfat

EDTA: Etilendiamin tetraasetik asit

ERK: *Extracellular signal regulated kinase*

EtBr: Etidyum Bromür

FOX1: *Forkhead box protein*

GDNF: *Glial cell line-derived neurotropic factor*

HGF: Hepatosit büyüme faktörü

HOXA 11: *Homebox A 11*

LIF: Lösemi inhibe edici faktör

LK: Bağlayıcı bölge

MAPKs: Mitojenle aktive protein kinazlar

MDCK: *Madin-Darby Canine Kidney*

MM: Metanefrik mezenşim

miRNA: mikroRNA

mRNA: Mesajcı RNA

NA: Bilinmiyor

NH2: Amino uç bölge

OD: Otozomal Dominant

OR: Otozomal Resesif

PAX 1: *Paired box gene 1*

PI3K: Fosfoinositol-3 kinaz

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RAS: Renin-anjiyotensin sistemini

RFLP: Restriksiyon Parçacık Uzunluk Polimorfizmi

RNA: Ribonükleik Asit

SALL1: *Sal-like 1*

SNP: Tek nükleotit polimorfizmi

STAT3: Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3

SIX1: *SIX homebox 1*

SIX2: *SIX homebox 2*

TAD: Transkripsiyonel aktivasyon bölgesi

TBE: Tris, Borik asit, EDTA çözeltisi

UB: Üreter tomurcuğu

UMOD: Üromodülin

WNT4: *Wingless-type member 4*

WNT11: *Wingless type MMTV integration site family member 11*

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1.</b> Böbrek gelişimi aşamalarına şematik genel bakış ve aşamalarda rol oynayan genler.....	13
<b>Şekil 2.</b> STAT3 genin kromozom üzerindeki yeri .....	15
<b>Şekil 3.</b> STAT3 geninin yapısı.....	16
<b>Şekil 4.</b> c.-1-13666T>C (rs744166) için uygulanan termal profil .....	26
<b>Şekil 5.</b> c.-1915C>G (rs4796793) için; uygulanan termal profil.....	26
<b>Şekil 6.</b> STAT3 geninde PZR-RFLP yöntemi ile analiz edilen rs744166 ve rs4796793 polimorfizmleri için PZR ile elde edilen amplikonlara ait agaroz jel elektroforezi görüntüsü .....	27
<b>Şekil 7.</b> rs4796793 (502 bç) MwoI restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesim paternlerinin görüntüsü .....	29
<b>Şekil 8.</b> rs744166 (329 bç) AluI restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesim paternlerinin görüntüsü .....	30

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> Konjenital böbrek ve üriner kanal anomalisi (CAKUT) gelişimi ile ilişkili genler.....	6
<b>Tablo 2.</b> Fare ve insan böbreğinin gelişiminde ve CAKUT oluşumunda rol oynayan genler.....	8
<b>Tablo 3.</b> STAT3 geninde bulunan SNP'ler için kullanılan primer dizileri, ampikon uzunlukları ve TM dereceleri.....	25
<b>Tablo 4.</b> STAT3 geninde bulunan rs4796793 ve rs744166 polimorfizmleri için uygulanan PZR içeriği.....	25
<b>Tablo 5.</b> RFLP analizinde kullanılan restriksiyon endonükleaz enzimleri, kesim paternleri, inkübasyon süreleri ve inkübasyon sıcaklık dereceleri.....	27
<b>Tablo 6.</b> rs744166 ve rs4796793 numaralı SNP'ler için uygulanan RFLP reaksiyonu içeriği.....	28
<b>Tablo 7.</b> STAT3 geninde bulunan rs1053004 ve rs3816769 için Melting Curve reaksiyon içeriği.....	30
<b>Tablo 8.</b> rs1053004 numaralı SNP'de bulunan genotiplerin melting curve yöntemi ile saptanmış görüntüsü.....	31
<b>Tablo 9.</b> rs3816769 numaralı SNP'de bulunan genotiplerin melting curve yöntemi ile saptanmış görüntüsü.....	31
<b>Tablo 10.</b> Hasta ve kontrol gruplarının cinsiyete göre dağılımı.....	33
<b>Tablo 11.</b> Hasta grubunun aldıkları tanılara göre gruplandırılması.....	33
<b>Tablo 12.</b> rs1053004 numaralı SNP'de saptanan genotip frekanslarının hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımı.....	34
<b>Tablo 13.</b> rs1053004 numaralı SNP'de saptanan allel frekanslarının hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımı.....	34
<b>Tablo 14.</b> rs3816769 numaralı SNP'de saptanan genotip frekanslarının hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımı.....	34
<b>Tablo 15.</b> rs3816769 numaralı SNP'de saptanan allel frekanslarının hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımı.....	35
<b>Tablo 16.</b> rs4796793 numaralı SNP'de saptanan genotip frekanslarının hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımı.....	35
<b>Tablo 17.</b> rs4796793 numaralı SNP'de saptanan allel frekanslarının hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımı.....	35
<b>Tablo 18.</b> rs744166 numaralı SNP'de saptanan genotip frekanslarının hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımı.....	36
<b>Tablo 19.</b> rs744166 numaralı SNP'de saptanan allel frekanslarının hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımı.....	36
<b>Tablo 20.</b> Genotip görülme sıklıklarını hasta ve kontrol gruplarında Hardy-Weinberg denge methoduna göre hesaplanması.....	37
<b>Tablo 21.</b> Hasta alt grupları (Tüm hastalık grupları-Kontrol) ile rs1053004 genotiplerinin dağılımı.....	38
<b>Tablo 22.</b> Hasta alt grupları (Tüm hastalık grupları-Kontrol) ile rs3816769 genotiplerinin dağılımı.....	39



<b>Tablo 23.</b> Hasta alt grupları (Tüm hastalık grupları-Kontrol) ile rs4796793 genotiplerinin dağılımı. ....	40
<b>Tablo 24.</b> Hasta alt grupları (Tüm hastalık grupları-Kontrol) ile rs744166 genotiplerinin dağılımı. ....	41
<b>Tablo 25.</b> Genel hasta grubu ve kontrol grubu arasında hastalık görülme sıklığının cinsiyete göre dağılımı .....	41
<b>Tablo 26.</b> Hasta alt grupları ile kontrol grubu arasındaki cinsiyet dağılımı .....	42
<b>Tablo 27.</b> rs744166, rs4796793, rs1053004 ve numaralı SNP'lerdeki genotipler ile cinsiyet arasındaki dağılım.....	43
<b>Tablo 28.</b> rs744166 nolu SNP'de genotip görülme sıklıkları ve tanı yaşları .....	43
<b>Tablo 29.</b> rs4796793 nolu SNP'de genotip görülme sıklıkları ve tanı yaşları .....	44
<b>Tablo 30.</b> rs1053004 nolu SNP'de genotip görülme sıklıkları ve tanı yaşları .....	44
<b>Tablo 31.</b> rs3816769 nolu SNP'de genotip görülme sıklıkları ve tanı yaşları .....	44

# 1. GİRİŞ

Konjenital böbrek ve üriner kanal anomalisi (CAKUT), böbrek gelişimindeki bozukluklar ile birlikte ortaya çıkan malformasyonların tamamını içeren hasta grubuna verilen genel bir addır. Renal displazisi, renal hipoplazi, hidronefroz, hidroüreter ve vezikoüreteral reflü gibi malformasyonları içerir ve bu malformasyonlar tüm konjenital malformasyonların yaklaşık %20-30'unu oluşturur. Her 1000 canlı doğumun 3-6'sında CAKUT görülmektedir [1-3].

Günümüze kadar 36 genin CAKUT gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. CAKUT'un birden fazla farklı hastalık tablosu içermesi ve içerisinde bulunan hasta gruplarının farklı malformasyonlara sahip olması nedeni ile yüksek klinik heterojeniteye sahiptir. Ayrıca, CAKUT hastalarının sadece yüzde yirmisinde söz konusu 36 gende mutasyon saptanmıştır [4, 5]. Bu sonuç CAKUT'ta yüksek heterojenitenin var olduğu görüşünü desteklemektedir. Konjenital böbrek ve üriner kanal anomalisi (CAKUT) nefrogenizde meydana gelen bozukluklar sonucu ortaya çıkar. Böbrek gelişiminde birçok büyüme faktörü, matriks molekülleri, transkripsiyon faktörleri gibi elemanlar görev alır. *PAX2*, *EYA1*, *SIX1*, *SIX2*, *SALL1*, *FOXC1*, *WT1* ve *HOX11* genleri gibi erken böbrek gelişiminde önemli rol oynayan genlerin çoğu, mezenkimde ifade edilir [6]. Bu genlerin yanında *GDNF*, *RET*, *RK MAP kinaz*, *PI3K*, *ETV4*, *ETV5*, *MET*, *MMP1*, *SPRY* genlerinin birbirleri ile etkileşimleri de böbrek gelişiminde önemli rol oynar [7-16]. Bu aşamalarda meydana gelecek bir bozukluk CAKUT tablosunun açığa çıkmasına sebep olabilir.

*STAT3*, bir transkripsiyon faktörü olarak omurgalı gelişiminde, inflamasyonda ve bağışıklığın kontrolü dâhil olmak üzere farklılaşmış doku fonksiyonlarında kilit role sahiptir [17]. *STAT3* varyasyonlarının insanda, otoimmünite ve kanser gibi hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir [18, 19]. Aynı zamanda *STAT3*'ün böbrek gelişimi ve anomalileri ile de ilişkili olabileceğini gösteren çok sayıda yayın bulunmaktadır.

Talbot ve arkadaşları farelerin renal tübül epitel hücrelerinde 7. günde *STAT3* geninin ifadenme seviyesinin yükseldiğini bildirmiştir. Bu dönem böbrek

gelişiminin en aktif olduğu dönemdir. Bunun yanında *STAT3* geninin tübülogenez için gerekli olduğu raporlanmıştır. Bir başka çalışmada ise Takakura ve arkadaşları otozomal dominant polikistik böbrek hastalığı (ADPKD) ile *STAT3* geninin ilişkisini araştırmışlardır. Otozomal dominant polikistik böbrek hastalığı (ADPKD) polikistin-1'i (PC1) kodlayan *PKDI*'deki mutasyonların neden olduğu kalıtsal bir hastalıktır. Takakura ve arkadaşları *PKDI* geninin ifadenmesinin baskılandığı polikistik böbrek hastalığı modeli olan farelerde *STAT3* ifadenmesini araştırmışlardır. *STAT3* inhibe edici pirimetamin verilen farelerde renal kist oluşumunun durduğunu raporlamışlardır [20, 21].

Bu tez çalışması kapsamında *STAT3*'ün ifadenmesinin düzenlenmesi ile ilişkili olduğu düşünülen rs1053004, rs4796793, rs744166, rs3816769 polimorfizmleri konjenital böbrek ve üriner kanal anomalisi (CAKUT) tanısına sahip hastalarda incelendi ve CAKUT ile ilişkisi belirlenmeye çalışıldı. Bildiğimiz kadarı ile *STAT3* geni üzerinde bulunan rs1053004, rs4796793, rs744166, rs3816769 SNP'ler ile konjenital böbrek ve üriner kanal anomalisi (CAKUT) ile ilgili yapılan bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışma sonucunda hasta ve kontrol grupları arasında allel sıklıkları açısından anlamlı fark bulunmamıştır. Bununla birlikte bulgularına göre alt gruplara ayrılan hastalar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hidronefroz alt grubunun kadınlarda, Vezikoüreteral reflünün ise erkeklerde daha yüksek sıklıkla gözlemlendiği belirlendi ( $p < 0,001$ )

## 2. GENEL BİLGİLER

Konjenital böbrek ve üriner kanal anomalisi (CAKUT) renal agenezisi, renal displazisi, renal hipoplazi, hidronefroz, hidroüreter ve vezikoüreteral reflü de dahil olmak üzere idrar yollarının morfogenezindeki bozukluklardan kaynaklanan çeşitli yapısal malformasyonları içerir. Tüm konjenital malformasyonların yaklaşık %20-30'unu oluşturur [1-3].

### 2.1. Üriner Sistem Anatomisi

Organizmanın kendisine zararlı olan atık ürünler üretmesi metabolizmanın kaçınılmaz bir sonucudur. Bu metabolik atıkların vücuttan atılması üriner sistemin görevidir. Üriner sistem vücuttaki metabolik atıkların temizlemesinin yanında vücutta asit baz dengesinin, elektrolit dengesinin ve kan basıncının düzenlenmesinde görev alır. Böylelikle vücuttaki homeostazın sağlanmasında önemli rol oynar. Üriner sistem toplamda 4 ana unsurdan oluşur. Bunlar; böbrekler, üreterler, mesane ve üretradır [22].

#### 2.1.1. Böbrek

Böbrekler fasulye şeklinde olup karın arka duvarında T12 (torakal 12) ve L3 (lumbal 3) vertebra seviyeleri arasında omurganın iki yanında retroperitoneal olarak yerleşmiştir. Böbreğin fonksiyonları;

- Kanı süzerek metabolik atıkları vücuttan atar.
- Sıvı ve elektrolit dengesinin düzenlenmesinde rol oynar. Böbrekler su, potasyum, sodyum ve kalsiyum gibi elektrolitleri koruyarak veya ortadan kaldırarak kanda çözünen konsantrasyonu veya ozmolariteyi düzenler.
- Vücuttaki asit baz dengesini düzenler. Böbrekler, hidrojen ve bikarbonat iyonlarının kan içindeki seviyelerini ayarlayarak kanın pH'sının uzun süreli olarak düzenlenmesinde yardımcı olur.
- Kan hacmini kontrol edip, düzenleyerek kan basıncının kontrolünde doğrudan rol oynar.

- Eritropoetin hormonunu serbest bırakarak kemik iliğindeki kırmızı kan hücresi üretiminin düzenlenmesinde rol oynar.
- Glukoneogenez sürecinde yeni glikoz üretilmesinde rol oynar [22, 23].

### 2.1.2. Üreter

Üreterler, idrarı böbreklerden idrar kesesine taşır. Uzunlukları yaklaşık 25-30 cm'dir. Her bir üreterin küçük bir mukoza kanalı vardır ve üreterin mesaneye açılmasında bir kapak işlevi görür. Bu sayede mesane kasıldığında idrarın üretere geri gelmesi engellenir[23, 24].

### 2.1.3. Mesane

Mesane, idrarı geçici olarak depolayan pürüzsüz, katlanabilir, kaslı bir kesedir. İki kalça kemiğini bağlayan kıkırdak yapı (*Symphysis pubis*) ile hemen arkasındaki pelvik retroperitoneal yerleşimdedir.

Mesanenin posterior tabanından mesane boynuna doğru uzanan kas yapısına trigon denir. Enfeksiyonlar bu bölgede devam etme yöneliminde olduğu için trigon klinik olarak önemlidir. Mesane oldukça hassas bir yapıdır. Mesane dolarken büzüşmüş mukoza düzleşir ve epitel incelir. Mesanede en çok 700 ile 800 mL idrar hacmine ulaşılabilir [23, 24].

### 2.1.4. Üretra

Üretra, idrar yolunun uç kısmında yer alan ince duvarlı bir tüptür. Üretranın temel işlevi idrarı mesaneden vücudun dışına boşaltmaktır. Üretranın uzunluğu ve işlevi iki cinsiyet arasında farklılık göstermektedir. Erkeklerde üretranın uzunluğu 20 cm'dir. Erkeklerde üretra 3 bölümden oluşur. Bunlar: prostat, membranöz ve süngerimsi üretra. Erkek üretrasının 2 işlevi vardır. Hem idrarı hem de spermi vücuttan dışarı taşır. Bu nedenle üretra erkeklerde hem üriner sistemin hem de üreme sisteminin bir parçasıdır. Kadınlarda ise 3-4 cm uzunluğunda olup vajinal açıklığın önüne kadar uzanır. Tek işlevi ise idrarı mesaneden vücudun dışına iletmektir [22, 23].

## 2.2. Doğumsal Böbrek Anomalileri

Üriner sistem üyelerini etkileyen yapısal ve fonksiyonel düzensizlikler CAKUT başlığı altında toplanmaktadır. Bunlar:

**Renal agenezi:** Tek veya her iki fetal böbreğin gelişmediği doğumsal malformasyondur.

**Renal displazi:** Metanefrik dokunun anormal farklılaşması sonucu ortaya çıkan bozukluklara bağlı olarak böbrek parankim dokusunun anormal gelişmesidir. Renal ageneziden farkı böbrek gelişiminin ilerleyen safhalarındaki duraksamalardan kaynaklanmaktadır [25].

**Renal hipoplazi:** Böbreğin yapısal olarak normal olup büyüklüğünün normal bir böbrekten daha küçük olması durumudur [26].

**Hidronefroz:** Böbreğin toplayıcı sistemlerinin genişlemesi durumudur [27].

**Veziköüretal reflü:** İdrarın mesaneden üretere doğru geri kaçması durumudur [28]. Bu malformasyonlara sahip hastalarda tekrarlayan üriner sistem enfeksiyonu görülmektedir.

Konjenital böbrek ve üriner kanal anomalisi (CAKUT) pediatrik böbrek hastalığının son dönemde önde gelen nedenini oluşturmaktadır. Prevelansının 1.000 doğumda 3 ile 6 arasında değiştiği tahmin edilmektedir [2]. Tedavi edilmeyen pediatrik böbrek hastalıkları büyüme, gelişme, kardiyovasküler morbidite, mortalite ve genç yaşlarda psikolojik sorunların artması ile ilişkilidir. Bu etkileri nedeni ile topluma, ekonomiye ve sağlık sistemine önemli yük getirmektedir [29]. Doğumsal böbrek ve üriner kanal anomalilerinin doğum öncesi tanı yüzdesi düşüktür. Konjenital böbrek ve üriner kanal anomalisinin (CAKUT) gelişimine neden olan faktörlerin anlaşılabilmesi hastalığın sınıflandırması ve prognozunun tahmin edilebilmesi için önemlidir [30]. Konjenital böbrek ve üriner kanal anomalisi hastalarının yaklaşık %10'unun yakın akrabalarında da böbrek anormallikleri bulunduğu ancak bunların sıklıkla bulgu vermediği belirtilmektedir. Bu nedenle kalıtsal olguların gözden kaçabildiği ve ailesel CAKUT görülme oranının olduğundan düşük tahmin edilebildiği belirtilmektedir [31]. Tüm bunlar göz önüne alındığında CAKUT'un gelişmesinde etkili olan faktörlerin açıklanması önemli bir hale gelmektedir.

Konjenital böbrek ve üriner kanal anomalisinin nispeten yaygın ve çoğunlukla sporadik olarak gözlemlenmesi, CAKUT gelişiminde *de novo* mutasyonların önemli

rol sahibi olduğunu düşündürmektedir [32]. Bugüne kadar 36 genin CAKUT kliniği ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte CAKUT veya ekstra renal bulgularla seyreden CAKUT hastalarının sadece %20'sinde söz konusu 36 gende mutasyon saptanmıştır. Bu veriler CAKUT'ta yüksek genetik heterojenitenin varlığını işaret etmektedir [4, 5]. Konjenital böbrek ve üriner kanal anomalisinin patogenezinde rol oynadığı bilinen genler ile ilgili bilgiler Tablo 1 ve Tablo 2'de özetlenmiştir.

**Tablo 1.** Konjenital böbrek ve üriner kanal anomali (CAKUT) gelişimi ile ilişkili genler.

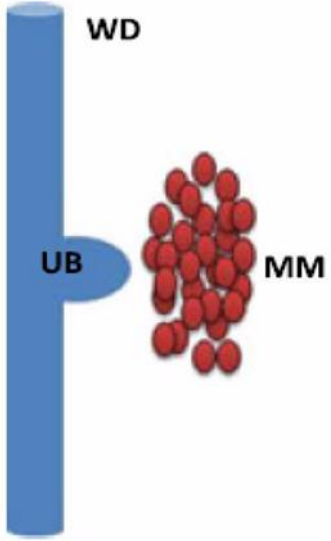
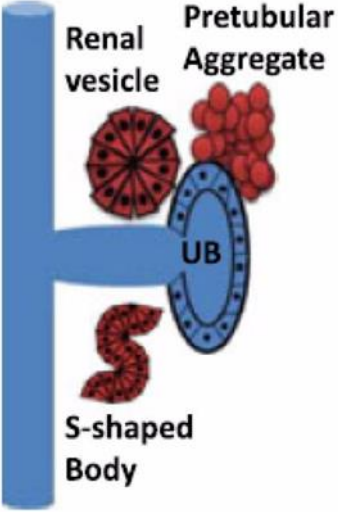
GEN	HASTALIK	OMIM #	KALITIM
<i>PAX2</i>	Renal bozukluklar (oligomeganefroni, hipodisplazi, VUR ve kistler)	120330	OD
<i>RET</i>	Bilateral böbrek hipodisplazisi, böbrek agenezisi, VUR, üreteral obstrüksiyon, megaureter, dubleks böbrek, böbrek anormallikleri ve Hirschsprung hastalığı	191830	OR
<i>EYA1</i>	Brankio-Oto Sendromu	602588	OD
<i>SALL1</i>	Townes-Brocks Sendromu, Brakio-Oto Renal Sendromu	107480	OD
<i>SIX1</i>	Brankio- Oto Sendromu, Brakio-Oto Renal Sendromu	608389	OD
<i>SIX2</i>	Renal hidroplazi	604994	NA
<i>BMP4</i>	Sendromik mikroftalmi, orofasiyal yarık	112262	OD
<i>GATA3</i>	Hipoparatiroidizm, böbrek displazisi.	146255	OD
<i>ROBO2</i>	VUR	610878	NA
<i>SLIT2</i>	Kistik displastik böbrekler, tek taraflı böbrek agenezisi.	603746	NA
<i>SRGAP1</i>	Kistik displastik böbrekler, tek taraflı böbrek agenezisi.	606523	NA
<i>WNT4</i>	Müllerian aplazi, hiperandrojenizm	158330	OD
<i>FGF20</i>	Renal hipodisplazi	605558	OR
<i>AGT</i>	Renal tübüler disgenezi	106150	OR
<i>REN</i>	Renal tübüler disgenezi	179820	OR
<i>ACE</i>	Renal tübüler disgenezi	106180	OR
<i>AGTR1</i>	Renal tübüler disgenezi	106165	OR
<i>UMOD</i>	Medüller kistik böbrek hastalığı tip 2, ailesel hiperüremik nefropati ve glomerülosistik böbrek hastalığı.	191845	NA
<i>TRAP1</i>	CAKUT	606219	NA
<i>HNF1B</i>	Böbrek kistleri ve diyabet sendromu, böbrek hipodisplazisi, multikistik displastik böbrek, kistik böbrek hastalığı, tek böbrek, oligomeganetoni	189907	OD


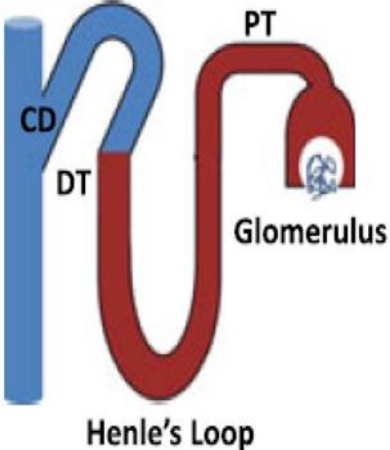
GEN	HASTALIK	OMIM #	KALITIM
<i>PKHD1</i>	Otozomal resesif polikistik böbrek hastalığı ve polikistik böbrek	606702	OR
<i>KAL1</i>	VUR	300836	X Bağımlı
<i>HOXA13</i>	VUR	142959	OD
<i>NIPBL</i>	VUR, Cornelia de Lange sendromu	608667	OD
<i>PBX1</i>	Böbrek ve idrar yollarının konjenital anomalileri birlikte veya harici işitme kaybı, anormal kulaklar veya gelişimsel gecikme.	176310	OD
<i>CHD7</i>	CHARGE sendromu, Agenezi,hipodisplazi, hidronefroz	608892	OD
<i>FRAS1</i>	Agenezi,kistik displazi,hipoplazi, hidronefroz	607830	OR
<i>FREM1</i>	Agenezi,kistik displazi,hipoplazi, hidronefroz	607830	OR
<i>DSTYK</i>	Böbrek ve idrar yollarının konjenital anomalileri	612666	OD
<i>PEX</i>	Kistik diplazi, hidronefroz	602136	OR
<i>DHCR7</i>	UP darlık, hidronefroz, VUR	270400	OR
<i>GPC-3</i>	Medüller kistik displazi	312870	X Bağımlı
<i>HSPG2</i>	Hidronefroz	224410	OR
<i>ESCO2</i>	Agenezi, hipodisplazi, hidronefroz	268300	OR
<i>JAG1</i>	Agenezi,hipoplazi, kistikdisplazi,VUR	118450	OD
<i>WT1</i>	Tümör,nefromegali	194070	OD

NA: Bilinmiyor, OD: Otozomal Dominant, OR: Otozomal Resesif



**Tablo 2** Fare ve insan böbreğinin gelişiminde ve CAKUT oluşumunda rol oynayan genler [33]

	<b>Farede Böbrek Gelişiminde ve CAKUT Oluşumunda Rol Oynayan Genler</b>	<b>İnsanda Böbrek Gelişiminde ve CAKUT Oluşumunda Rol Oynayan Genler</b>
 <p>Yerleşme ve üreter tomurcuk gelişiminin başlaması</p>	<p><i>Bmp4,</i> <i>Emx2,</i> <i>Eya1,</i> <i>Foxc1,</i> <i>Foxc2,</i> <i>Gdnf,</i> <i>Gfra1,</i> <i>Grem1,</i> <i>Hoxa11,</i> <i>Hoxc11,</i> <i>Hoxd11,</i> <i>Six1,</i> <i>Six2,</i> <i>Ret,</i> <i>Hs2st,</i> <i>Isl1,</i> <i>Itga8,</i> <i>Lhx1,</i> <i>Lim1,</i> <i>Osr1,</i> <i>Pax2,</i> <i>Pax8,</i> <i>Robo2,</i> <i>Sall1,</i> <i>Spry1,</i> <i>Wt1</i></p>	<p><i>BMP4,</i> <i>EYA1,</i> <i>GATA3,</i> <i>PAX2,</i> <i>RET,</i> <i>ROBO2,</i> <i>SALL1,</i> <i>SIX1,</i> <i>SIX2</i></p>
 <p>Mezenkimalden epitele geçişi</p>	<p><i>Bmp4,</i> <i>Bmp7,</i> <i>Eya1,</i> <i>Fgf20,</i> <i>Fgf8,</i> <i>Fgf9,</i> <i>Lim1,</i> <i>Osr1,</i> <i>Six2,</i> <i>Smad4,</i> <i>Tcf21,</i> <i>Tgfb2,</i> <i>Wnt4,</i> <i>Wnt96</i></p>	<p><i>FGF20,</i> <i>WNT4</i></p>

	<b>Farede Böbrek Gelişiminde ve CAKUT Oluşumunda Rol Oynayan Genler</b>	<b>İnsanda Böbrek Gelişiminde ve CAKUT Oluşumunda Rol Oynayan Genler</b>
 <p>Dallanma Morfojenezi</p>	<p><i>Agt</i> (Angiotensin),  <i>Agtr</i> (Agt- Receptor),  <i>Bmp4</i>,  <i>Bmp7</i>,  <i>Ffgr1</i>,  <i>Ffgr2</i>,  <i>Gpc3</i> (Glpican3),  <i>Grem1</i> (Gremlin),  <i>Hoxa11</i>,  <i>Hoxc11</i>,  <i>Hoxd11</i>,  <i>Met</i>,  <i>Pod1</i>,  <i>Pten</i>,  <i>Rara</i>,  <i>Spry1</i>,  <i>Wnt11</i></p>	<p><i>AGT</i>,  <i>AGTR</i></p>
 <p>Nefronun Şekillenmesi ve Uzaması</p>	<p><i>Agt</i>-Reseptör,  <i>Agt</i> (Angiotensin),  <i>Jag1</i>,  <i>Notch2</i>,  <i>Pax2</i>,  <i>Umod</i>,  <i>Wt1</i></p>	<p><i>UMOD</i></p>

### 2.3. Nefrojeniz ve CAKUT İlişkisi

CAKUT' un patogenezi, çevresel veya genetik nedenlere bağı olarak normal nefrojenizin bozulmasına dayanır [34].

Nefrojeniz, fetüste 5. haftada başlar ve insanlarda doğum öncesinde tamamlanır. Bu süreç böbrek ve idrar yollarının gelişimini başlatan karmaşık etkileşimleri ve sinyalizasyon süreçlerini içerir [3, 35]. Yetişkin memelilerde böbrekler ve üst üriner sistem, üreter tomurcuğun (UB) kaudal Wolf kanalından dorsal metanefrik mezenşime uzanarak farklılaşmaya başlayan gelişim süreci sonucunda gelişir [26]. Böbrek gelişiminin ilk işareti, ara mezoderm, metanefrojenik mezenkim ve nefrik kanaldan türetilen iki doku arasındaki etkileşimdir. *PAX2*, *EYA1*, *SIX1*, *SIX2*, *SALL1*, *FOXC1*, *WT1* ve *HOX11* genleri gibi erken böbrek gelişiminde önemli rol oynayan genlerin çoğu mezenkimde ifade edilir. İnsanlarda bu genlerde oluşan mutasyonların böbrek hastalıklarıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir [6]. Yetişkin böbrek (metanefroz) gelişmeden önce, embriyonun iki geçici böbreği (pronefroz ve mezonefroz) vardır. Metanefroz kalıcı böbreği oluşturur [36] (Şekil 1). Daha önce belirtildiği gibi nefrojeniz sıralı ve karşılıklı hücre ve doku etkileşimleri ile düzenlenir. Nefrojeniz sürecinde Wolf kanalının formasyonu, üreter tomurcuğu (UB) ve metanefrik mezenşim (MM) hücreleri arasındaki etkileşimin gerçekleşmesi ve distal üreterin olgunlaşması gözlenir [37, 38]. Nefrojeniz sırasında, renin-anjiyotensin sistemini (RAS) kodlayanlar da dahil olmak üzere birden fazla gen ağı, UB'nin doğrudan olgunlaşmasının yanı sıra olgun nefronların oluşumu ve gelişimi ile ilgilidir [39]. GDNF/RET sinyalleri primer tomurcuk oluşumu sırasında ve böbrek gelişimi boyunca UB dallanması için önemlidir [8, 10, 16]. RET sinyalleri, ERK/MAP kinaz, PI3K ve PLC $\gamma$  yolları gibi birçok yol tarafından aktive edilir [12]. Yapılan birkaç çalışmada gösterildiği gibi, bu yollar UB dallanmasına katkıda bulunur [15]. GDNF/RET sinyal iletiminin en önemli fonksiyonlarından biri UB oluşumu sırasında *ETV4*, *ETV5*, *MET*, *MMP1*, *SPRY1* ve *WNT1* gibi genlerin ifadenmelerinin artırılmasıdır [7, 13]. *ETV4* ve *ETV5* ifadenmesinden yoksun olan farelerde böbrek gelişimi olmadığı gösterilmiştir. Hayvan deneylerinde *RET*, *ETV4/5* veya *SPRY1* genlerinin hücre göçünde rol oynadıkları gösterilmiştir. *ETV4* ve *ETV5* yoluyla RET aktivasyonunun nefrik kanalda hücre düzenlemelerini başlattığı ve bu bölgedeki en yüksek RET sinyal seviyesine sahip hücrelerin tercihen ilk üreter tomurcuk ucunu

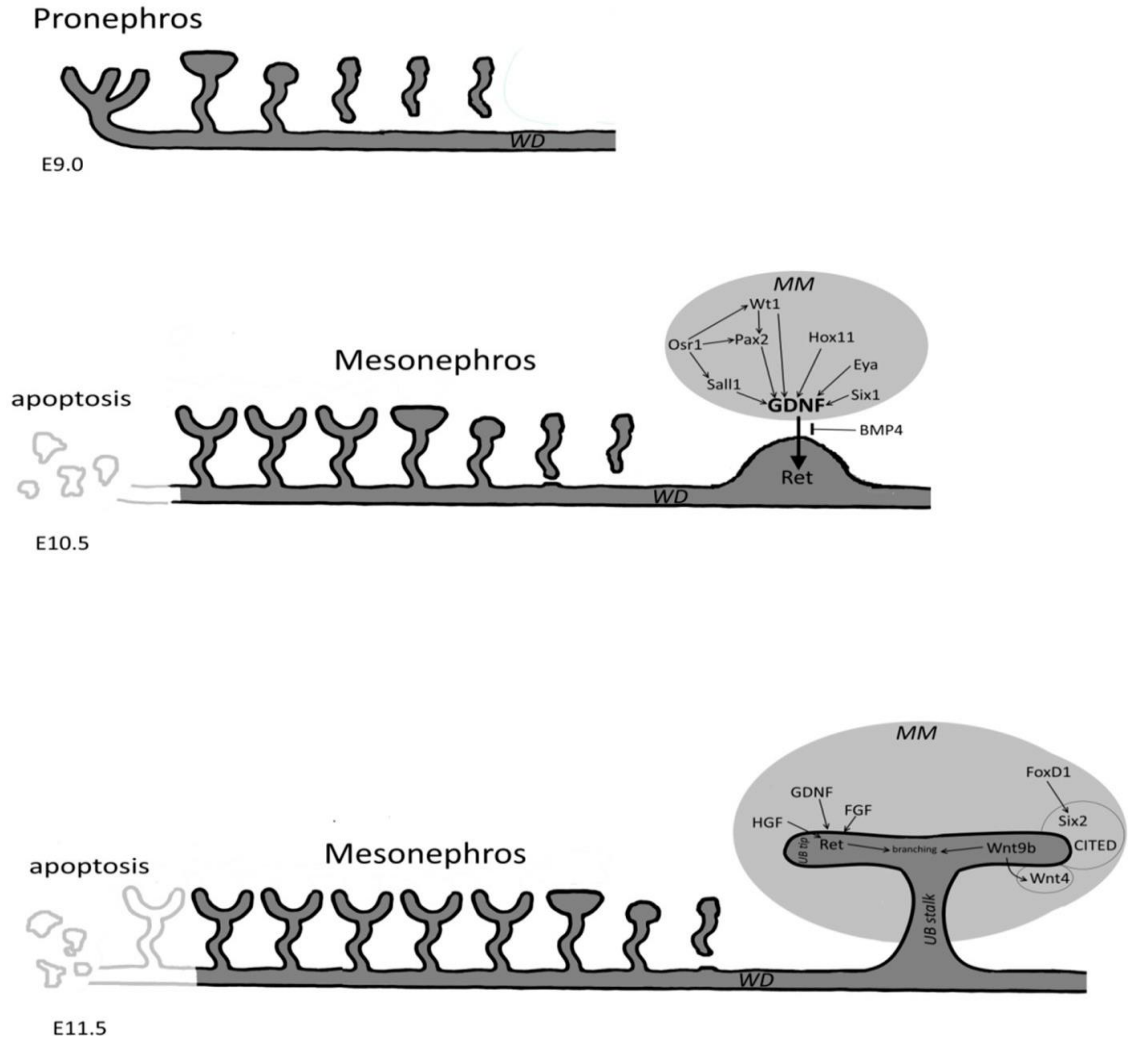
oluşturmak üzere göç ettiği gösterilmiştir [9]. Yapılan diğer çalışmalarda *GDNF/RET* ve *SPRY1* olmadan gelişen böbreklerde önemli dallanma anormallikleri olduğu gösterilmiştir [9].

Erken metanefrik gelişim sürecinde Fibroblast Büyüme Faktörleri (FGF)'nin önemli bir yeri vardır. Bu reseptörler embriyonik gün E10.5 ve E11.5 civarında metanefrik mezenkimde ve üreter tomurcuğunda ifade edilir. FGFR1 ve FGFR2 böbrek gelişiminde önem taşıyan 2 reseptördür [14]. Reseptörlerden birinin eksikliğinde böbrek gelişim bozukluğu pek görülmesine de ikisinin de eksik olması durumunda böbrek agenezisi ortaya çıkar. Her iki reseptörün eksikliğinde *PAX2*, *SIX2* ve *SALL1*'in ifadenme seviyelerinde düşüş meydana gelir. Aynı zamanda, embriyonik gün E11.5'te *GDNF* ifadenme seviyelerinin azalmasına neden olur. *FGFR1* ve *FGFR2* eksikliği olan metanefrik mezenkimde, embriyonik gün E10.5'te *EYA1*, *SIX1* ve *WT1*'i ifade edilir. Bununla birlikte, bu aşamadaki mutantlarda *PAX2*, *SIX2* ve *SALL1* genlerinin ifadenmediği gösterilmiştir. Bu bulgu FGF'nin söz konusu transkripsiyon faktörlerinin üzerinde tetkikleyici bir rolü olduğunu göstermektedir [11]. Yapılan diğer bir çalışmada ratlarda insan rekombinant FGF7 veya FGF10'un aşırı ifadenmesinin üreter kökenli toplama kanallarında kist oluşumuna yol açtığı gösterilmiştir [11].

Nefrogenezde en önemli yollardan birisi de WNT sinyal yolağıdır. Embriyonik böbrekte bir dizi WNT ailesi üyesi ifade edilir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda WNT-2b, -4, -5b, -6, -7b, -9b ve -11'in böbrek gelişimi sırasında ifade edildiği gösterilmiştir [40, 41]. WNT4, üreterde epitel oluşumu için metanefrik mezenşimdeki hücrelerden ifadenir [42]. WNT7b, toplama kanalı epitelinde ifadenir ve kortiko medüller aks oluşumunda rol oynar [43].

STAT ailesinin bir üyesi olan STAT3, nefrogenez, inflamasyon, gliogenez, hepatogenez, T hücresi proliferasyonu ve onkogenez dahil olmak üzere çeşitli biyolojik süreçlerde görev alır [17]. Barasch ve arkadaşları standart bir indüksiyon modeli kullanarak, üreter tomurcuk hücrelerinin, böbrek mezenşim hücrelerini, epitel hücrelerine dönüştüren faktörleri salgıladığını ve nefron oluşturduğunu göstermiştir. Bu faktör saflaştırılıp sınıflandırıldığında lösemi inhibe edici faktör (LIF) olarak tanımlanmıştır. LIF'in epitel öncüleri (*PAX2*, *WNT4* ifade eden hücreler) üzerinde etkisini incelemek için metanefrik mezenkim hücreleri *in vitro*'da FGF2 ile kültüre

edilmiştir. Kùltür ortamına LIF'in eklenmesinden sonra *STAT3*'ün aktivasyonu (GP130 aktivasyonunun bir hedefi) takip edilmiştir. LIF ile 1 saat inkübe edilen hücrelerde fosforlanmış *STAT3*'ün, hücrelerin çekirdeğinde belirgin bir şekilde var olduğu ve sitokinin epitel öncüllerinde ikinci haberci sinyalini doğrudan aktive edebileceği gösterilmiştir [44]. Bienaimé ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada böbrek hasarı sonrası tübüler hücrelerde *STAT3* transkripsiyon faktörünün aktive edildiği gözlemlenmiştir. Tübüler hücrelerde *STAT3*'ün interstisyel fibrozisin gelişimindeki rolü farklı genetik kökenli ve genetiği değiştirilmiş farelerde nefron redüksiyon modeli kullanılarak çalışılmıştır. Nefron azalması tübulointerstisyel lezyon gibi renal lezyon eğilimli farelerin tübüler hücrelerinde *STAT3* aktivasyonuna neden olurken, dirençli farelerde *STAT3*'ün aktive olmadığı gösterilmiştir [45].



Şekil 1. Böbrek gelişimi aşamalarına şematik genel bakış ve aşamalarda rol oynayan genler [46].

#### 2.4. STAT3 Geninin Böbrek Üzerindeki Etkisi

Talbot ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptıkları çalışmada doğumdan sonraki 7. Günde *STAT3* geninin renal tübül epitel hücrelerinde oldukça aktif olduğu gösterilmiştir. Bu dönem böbrek gelişiminin en aktif olduğu dönemdir. *STAT3* aktivitesinin doğumdan sonraki 14. Günde baskılandığı ve yetişkin böbreklerde *STAT3* aktivitesinin neredeyse tespit edilemez olduğu bildirilmiştir [21].

Civa klorür ( $HgCl_2$ ) gibi civa içeren bileşiklerin uygulanması, nefrotoksin ile indüklenen Akut Böbrek Hasarı (AKI)'nın incelenmesi için kullanılan bir modeldir. Farelerde  $HgCl_2$  ile indüklenen akut böbrek hasarında, IL-6 aracılığı ile *STAT3*'ün aktive olduğu gösterilmiştir. Nechemia ve arkadaşları bunun yanında farelere  $HgCl_2$  uygulamasından önce *STAT3* aktivasyonunun hayvanları akut böbrek hasarı

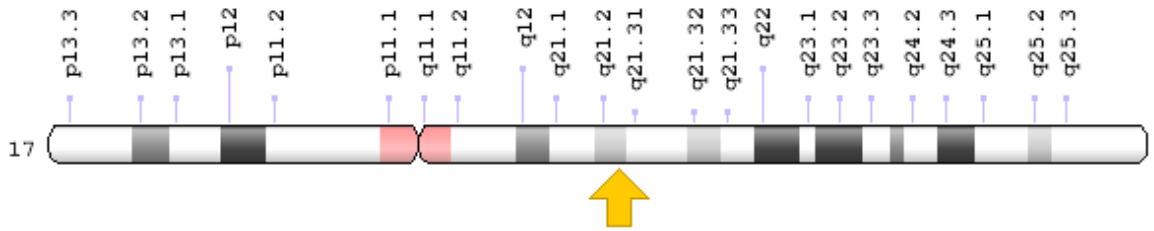
(AKI)'dan koruduğunu ve hayatta kalma ile sonuçlandığını göstermiştir. Bu çalışmada renal tübüler epitel hücrelerinde renal IL-6 ifadenmesi ve STAT3 aktivasyonunun, hasarın gelişimi sırasında önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir. IL-6 hedef hücrelerde IL-6 reseptörüne (IL-6R) bağlanır ve sinyal hücre içinde yer alan gp130 üzerinden aktarılır. Bu çalışmada sağlıklı farelerde renal parankim içindeki IL-6R ifadenmesi incelendiğinde IL-6R ifadenmesinin düşük seviyede olduğu belirlenmiştir. Gp130 tüm hücrelerde ifadenirken IL-6R sadece hepatositler ve bazı lökositler dâhil olmak üzere vücutta az sayıda hücrede ifadenmektedir. IL-6R'nin ifadenmediği hücrelerde sitokin yanıt oluşmaz. Reseptörün hücre dışında çözünür halde bulunan sIL-6R formu IL-6'yı IL-6R ile benzer afinite ile bağlayabilir. Bu işlem trans-sinyalleşme olarak adlandırılmaktadır [47]. Nechemia ve arkadaşlarının çalışmasında yaralanma sırasında serum sIL-6R düzeylerinin üç kat arttığı gösterilmiştir. IL-6'nın bir IL-6/sIL-6R füzyon proteini ile trans-sinyalleşmesinin uyarılması sonucunda renal tübüler epitelde STAT3'ü aktive olduğu ve AKI'yi önlediği tespit edilmiştir [48]. Bir başka çalışmada ise kültüre edilmiş proksimal tübül hücrelerinde STAT3'ün, renal iskemik hasarın belirteci olan ATP-tükenmesine cevap olarak aktive edildiği tespit edilmiştir. Bunun yanında STAT3'ün aşırı ifadenmesi ise bu sistemde apoptozdan korumaya neden olduğu gösterilmiştir [49]. Kuratsune ve arkadaşlarının çalışmasında ise STAT3'ün hem tübül epitel hücrelerinde hem de interstisyel hücrelerde aktif olduğu gösterilmiştir [50]. Pang ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada ise interstisyel fibroblastlarda yüksek düzeyde STAT3 aktivasyonu olduğu bildirilmiştir [51]. Kronik böbrek hastalığı modeli olarak adriamisin kaynaklı nefropatiye cevap olarak renal STAT3'ün aktive olduğu gösterilmiştir, ancak aktive hücre tipleri tanımlanmamıştır [52]. Bu modelde JAK2 inhibitörü olan AG490 ile tedavinin STAT3'ü baskılandığı ve uzun süreli böbrek fonksiyon bozulmasının engellendiği gösterilmiştir [52]. He ve arkadaşları 2004 yılında bir HIV-1 proteini olan Nef'in (Negative Regulatory Factor) SRC-ilişkili sinyal yolağını ve RAS-MAPK1-2 ve STAT3 moleküllerini aktive ederek podosit proliferasyonunu uyardığını ve podositlerin yeniden farklılaşmasına neden olduğunu göstermişlerdir. Bu aktivasyonun, HIV ilişkili nefropati (HIVAN) gelişmesi ile sonuçlandığını göstermişlerdir [53].

Otozomal Dominant Polikistik Böbrek Hastalığı (ADPKD), sıvı dolu kist gelişimi ile tanımlanır ve böbrek fonksiyon kaybına neden olur. Otozomal dominant polikistik böbrek hastalığı (ADPKD), çoğunlukla polikistin-1'i (PC1) kodlayan PKD1'deki mutasyonların neden olduğu kalıtsal bir hastalıktır. Takakura ve arkadaşları STAT3 ifadenmesinin PKD1 geninin ifadenmesinin baskılandığı polikistik böbrek hastalığı modeli olan farelerde araştırdılar. Çalışmada polikistik böbrek hastalığı oluşumu olan farelere anti parazitik bir bileşik olan pirimetamin verilerek renal kist oluşumunun olup olmayacağı test edildi. Sonuç olarak pirimetamin ile yapılan tedavi sonucunda fare modellerinde renal kist oluşumunun bloke edildiği gösterildi. Bu çalışma sonrasında pirimetaminin STAT3 aktivitesinin bir inhibitörü olduğu tanımlandı [20].

Özetle yapılmış olan çalışmalar STAT3'ün böbrek gelişiminde ve böbrekte ortaya çıkan anomalilerde önemli bir molekül olduğunu göstermektedir.

## 2.5. STAT3 Geni

Onyedinci kromozomun uzun kolunun, 21'inci bandında yer alan STAT3 geni 24 ekzondan oluşur. [54]. Translasyon başlatma kodonu ekzon 2'de durdurma kodonu ise ekzon 24'de yer almaktadır [55].

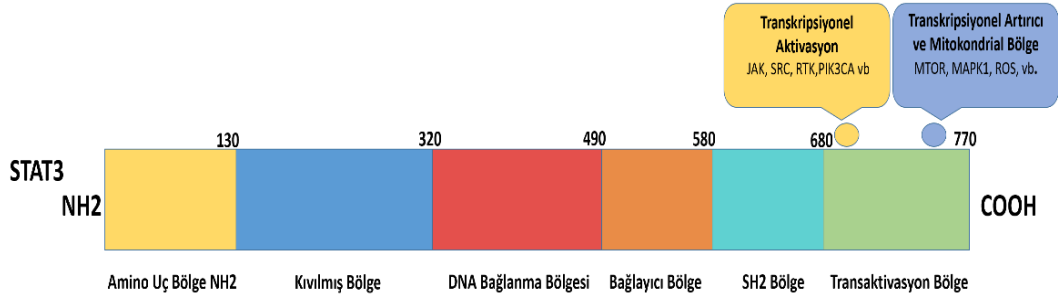


Şekil 2. STAT3 genin kromozom üzerindeki yeri [56].

STAT3, inflamasyon, immün yanıt, apoptozis, epidermal büyüme faktörünün (EGF) düzenlenmesinde ve erken dönem embriyonik gelişimde rolü olan STAT ailesinin bir üyesidir [57, 58]. Miyoshi ve arkadaşları 2001 yılında northern blot yöntemi kullanarak yaptıkları çalışmada STAT3'ün karaciğer, kalp, böbrek, akciğer, dalak, beyin, testis ve kas gibi farklı dokularda ifadenmesi olduğunu saptamışlardır [55].



Bugüne kadar 7 adet STAT proteini belirlenmiştir. Bunlar STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b ve STAT6'dır [59]. STAT proteinlerinin yedi adet korunmuş fonksiyonel bölgesi bulunmaktadır. Bunlar;



Şekil 3. STAT3 geninin yapısı

1. Amino uç bölge (NH2): Çok iyi korunmuş bir bölgedir. Fosforile olmayan STAT'lar arasında homotipik dimer oluşumunu sağlamaktadır.
2. Kıvrılmış bölge (coiled-coil): Düzenleyici proteinlerle ilişkilidir. Çekirdek giriş-çıkışının kontrol sürecinden sorumlu tutulmaktadır.
3. DNA bağlama bölgesi (DBD): Çekirdek giriş-çıkışının düzenlenmesinden sorumlu tutulmaktadır.
4. Bağlayıcı bölge (LK): DNA bağlayıcı motif için görev yapar.
5. SH2 bölge: En çok korunmuş bölgedir. Aktif STAT dimerlerinin oluşumunun yanı sıra, reseptör zincirinde özel iç göç hareketine aracılık eder.
6. Tirozin aktivasyon bölgesi: SH2 bölgesine benzerlik gösterir ve inaktif homodimerin dış yüzeyinde bulunur. Aktif bir uyum için gerekli kritik yapısal değişiklikleri yönetir.
7. Transkripsiyonel aktivasyon bölgesi (TAD): STAT aile üyeleri arasında farklılık göstermektedir. Hedef genlerin transkripsiyonel aktivasyonunu düzenler [60, 61].

STAT3'ün böbrek gelişimi ve anomalileri ile ilişkili olabileceğini gösteren çok sayıda yayın bulunmaktadır. *GDNF*, *RET*, *WNT*, *HOX11* gibi böbrek gelişiminde rol oynayan genler *STAT3* geninin ifadenmesinde ve aktivasyonunda da rol oynamaktadır. STAT3, tirozin 705 veya serin 727 fosforilasyonu ile transkripsiyonel olarak aktive edilebilir [62]. Mutasyonun tipine bağlı olarak, onkogenik *RET* geni,

STAT3'ün özgül tirozin 705 veya serin 727 fosforilasyonunu indükleyebilir [63, 64]. Onkogenik RET kaynaklı STAT3 fosforilasyonuna aracılık eden sinyal yolları hücre tipleri arasında farklılık gösterir. Örneğin tiroit kanseri hücrelerinde tek başına onkogenik *RET* geninin STAT3 fosforilasyonunu indüklemek için yeterli olduğu gösterilmiştir [65]. Bunun yanında diğer hücre modellerinde mutant RET geninin ligandan bağımsız olduğunu gösteren SRC / JAK / STAT3 yolunu aktive ettiği gösterilmiştir [66].

Zhou ve Too'nun 2013 yılında yaptığı bir çalışmada STAT3 geninin GDNF ligand ailesinin (GFL) bir üyesi olan Neurturin (NRTN) ile aktive edilip edilmeyeceği araştırılmıştır. NRTN'nin serin 727'yi indüklediğini ancak primer kortikal nöron ve nöronal hücre hatlarında STAT3'ün tirozin 705 fosforilasyonunu göstermediğini gözlemlenmiştir. Bunun yanında STAT3 fosforilasyonuna spesifik olarak GFRa2c ve RET9 izoformlarının aracılık ettiği raporlanmıştır [67]. Bu bulgular *GDNF* ve *RET* genlerinin STAT3 aktivitesinin kontrolünde rol oynadığını göstermektedir.

STAT3 birçok dokuda hücre sağ kalımını düzenlemektedir. STAT3 ve WNT/ $\beta$ -katenin'in anormal aktivasyonu, genellikle malignitelerde meydana gelir ve iki yolun birbirini düzenleyecek şekilde hareket ettikleri kanser hücre hatlarında gösterilmiştir [68, 69]. Yapılan son çalışmalar, neoplastik olmayan hücrelerde STAT3 ve WNT sinyalleri arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir [70]. WNT ligandları, WNT3A, WNT5A ve WNT6'nın, fare embriyonik kök hücrelerinde STAT3 ifadenmesinde artışa neden olduğu gösterilmiştir. Bu veri WNT ligandlarının STAT3 geninin ifadenmesinde rol oynadığını göstermektedir [70].

STAT3 geninde var olan polimorfizmlerin STAT3 geninin ifadenmesini veya diğer genlerle etkileşimini değiştirebildiği gösterilmiştir. Bu çalışmada STAT3 geninin ifadenmesinde etkili olabilecek 4 polimorfizm incelendi. Bu polimorfizmler rs1053004, rs744166, rs4796793, rs3816769'dur.

### **2.5.1. STAT3 geni polimorfizmleri**

**2.5.1.1. rs1053004 (c.1671C>T):** STAT3 geninin 3' UTR bölgesinde yer almaktadır. 3' UTR bölgesinde genellikle transkripsiyon sonrası gen ifadenmesini düzenleyebilen düzenleyici elementler bulunması nedeniyle STAT3'ün ifadenmesinde rol oynayabileceği düşünülmektedir [71]. Literatürde rs1053004

polimorfizminin bazı miRNA'ların (miR 423-5p, hsa-miR-31-5p, hsa-miR-99b-3p) bağlanmasını etkilediği bildirilmektedir [72-74]. İran popülasyonunda yapılan çalışmada rs1053004 GG genotipine sahip kişilerde kardiyopulmoner bypass sonrası oluşan akut böbrek hasarının görülme oranında azalma olduğu bildirilmiştir. rs1053004 AG genotipinin ise kardiyopulmoner bypass sonrası oluşan akut böbrek hasarının görülme oranını arttırdığı gözlenmiştir [72].

**2.5.1.2. rs744166 (c.-1-13666T>C):** Ekzon 1 ve ekzon 2 arasında intronik bölgede yer alan c.-1-13666T>C polimorfizminin STAT3 ifadenmesinde ve transkriptin kırılmasında etkili olabileceği belirtilmektedir [75, 76].

**2.5.1.3. rs4796793 (c.-1915C>G):** STAT3 genin 5' UTR kısmında var olan c.-1915C>G polimorfizminin STAT3 ifadenmesini ve STAT3 geninden üretilen transkriptin stabilitesini etkileyebileceği belirtilmektedir [77].

**2.5.1.4. rs3816769 (c.273+314A>G/T):** Bir diğer intronik polimorfizm olan c.273+314A>G/T ise STAT3'ün aşırı ifadenmesine neden olduğu gösterilmiştir [78].

## **2.6. Polimorfizm**

Polimorfizm kelime anlamı olarak çeşitlilik demektir. Bir toplumunda saptanan genetik çeşitlilik ise genetik polimorfizm olarak ifade edilir [79]. Polimorfizmler genetik yapıda meydana gelen ve görülme sıklığı %1'den yüksek olan değişimlerdir. [80].

### **2.6.1. Tek nükleotid değişimi**

Tek nükleotid değişimleri (SNP'ler) genomda tek bir nükleotid değişmesi sonucu ortaya çıkan DNA dizi varyasyonlarıdır. İnsan genom dizileri karşılaştırıldığında, ortalama olarak 1000 nükleotidde 1 farklılık gösterdiği saptanmıştır. Bu varyasyonların çoğu yaygın ve nispeten zararsızdır. Polimorfizmlerin çoğunluğu, tek nükleotid polimorfizmleri veya SNP'ler olarak adlandırılan tek bir nükleotidin değişikliğine bağlıdır [81]. Geri kalan polimorfizmler büyük ölçüde

insersiyon veya delesyon sonucunda oluşur. Değişiklik küçük olduğunda indel veya büyük olduğunda kopya sayısı varyasyonları (CNV'ler) olarak adlandırılır [81].

### **2.6.2. Protein oluşumu üzerine SNP'lerin etkileri**

SNP'ler DNA üzerinde bulunduğu yer ve oluş şekline göre, proteinlerin yapısı ve işlevleri üzerinde değişik roller oynayabilmektedirler. Bu durum şu şekilde özetlenebilir;

1. Tek nükleotid değişimi, protein kodlanan bölgede amino asit değişimine neden olmayan bir SNP ise üretilen proteinin yapısında veya fonksiyonunda hiçbir değişiklik olmayacaktır.
2. Tek nükleotid değişimi, bir genin üretimi ile ilgili promotor bölgede veya üretilen transkriptin olgunlaşması sırasında görev alan konsensus dizilerinde meydana geliyorsa, oluşan mRNA seviyesi ve stabilliği bozulabileceği için gen ifadenme seviyesinde de farklılıklar olacaktır [82].

Sonuç olarak polimorfizmler genlerin ifadenmesinin kontrolünü veya oluşan transkriptin transferinden protein sentezine kadar yaşam döngüsünü etkileyebilir. Bu nedenle polimorfizmlerin etkilerinin anlaşılması önemlidir.

## **2.7. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)**

Kary Mullis tarafından 1985 yılında geliştirilmiş olup 1993 yılında bu buluş Kary Mullis'e kimya alanında Nobel ödülünü kazandırmıştır. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) tabanlı yaklaşımlar, moleküler biyoloji ve genetik alanında çok geniş kullanım alanına sahiptir.

PZR periferik kan, cilt, saç, tükürük gibi çeşitli hücre ve dokulardan elde edilen kaynak DNA'da belirli bir bölgenin çoğaltılmasında kullanılmaktadır. Her bir PZR testi, ortalama 100-150 ng kalıp DNA, primerler, nükleotidler ve DNA polimerazının varlığını gerektirir. DNA polimeraz, PZR ürününü sentezlemek için kullanılan enzimdir. Deoksiribonükleotidler DNA'da bulunan dört bazı (adenin-A, timin-T, sitozin-C ve guanini-G) içerir. Bunlar, elde edilen PZR ürününü oluşturmak için DNA polimeraz tarafından kullanılan yapı blokları olarak işlev görür. Reaksiyondaki primerler, çoğaltılacak olan DNA ürününde hedef bölgenin saptanması ve çoğaltılması için hedef DNA'ya tamamlayıcı oligonükleotidlerdir. Bunlar, DNA

polimerazın çalışabilmesi için serbest 3'OH ucu oluşturur [83]. PZR üç aşamadan oluşmaktadır.

**Erime (Denatürasyon):** Bu evrede DNA ipliklerini birleştiren hidrojen bağları ısı enerjisi ile kırılır. DNA molekülü tek iplikli hale gelir. Bu ısı genellikle 95-100°C aralığındadır [84].

**Bağlanma (Annealing):** Bu evrede çoğaltılmak istenilen DNA bölgesine özgül olan oligonükleotidler, erime evresinde ayrılan DNA zincirlerinde kendisine komplementer olan nükleotid dizisiyle hibridize olur. Primerler, hedef DNA ipliğinin amplifikasyonunu başlatmak için kullanılır [85, 84]. Bu işlem için uygun ısı 40-60 °C aralığındadır. [79]

**Uzama (Amplifikasyon):** Bu evrede DNA polimeraz enzimi 5'- 3' yönüne doğru dNTP ekleyerek, primerlerden itibaren hedef bölgenin çoğaltılmasını sağlar. Sonunda hedef DNA'nın iki zincirli kopyası elde edilmiş olur. Uzama enzimin optimum çalışma sıcaklığı olan ısı derecesinde gerçekleşir. Bu genellikle 72°C'dir [79]. Bu 3 evrenin tamamı bir PZR döngüsünü oluşturur. Bir döngü ortalama 3-5 dakika kadar sürer ve tüm PZR genellikle 20 ile 40 döngü olacak şekilde tekrarlanır. Amplifikasyonun tek bir döngüsü sonunda oluşan ürünler öncekinin iki katıdır. Döngü sayısını "n" olarak kabul edecek olursak "2<sup>n</sup>" çoğaltılan hedef dizinin sayısını verir. 20 döngünün sonunda yaklaşık 1 milyon DNA kopyası elde edilir. [80, 84]

## **2.8. Restriksiyon Fragmanı Uzunluk Polimorfizmi (RFLP)**

Restriksiyon Fragmanı Uzunluk Polimorfizmi (RFLP), bilinen genetik değişkenlerin varlığını araştırmak için kullanılan basit, ucuz, doğru ve yaygın bir laboratuvar tekniğidir. Bu yöntemde restriksiyon endonükleaz adlı enzimler kullanılır. Restriksiyon endonükleazlar kısa DNA dizilerini özgül olarak tanıyıp bu diziler içindeki özgül bölgeleri kesen enzimlerdir. Kesim ürünlerine bakılarak analiz yapılır. [86]

### **2.8.1. Restriksiyon endonükleazlar**

Restriksiyon enzimleri özgül kısa DNA dizilerini tanır ve keser. Restriksiyon endonükleazlar bakterilerde doğal bağışıklık sisteminde görev alır [87]. Bu

endonükleazlar sayesinde bakteriler bakteriyofaj DNA'sı gibi yabancı DNA'yı keser ve etkisiz hale getirir [88, 87]. Restriksiyon enzimlerinin isimleri, izole edilen bakterinin cins ismin ilk harfi ve tür isminin ilk iki harfinden oluşmaktadır. Tanımlanan ilk restriksiyon endonükleaz, *Haemophilus influenzae* bakterisinden elde edilen *HindII* enzimidir. 3 tip restriksiyon endonükleaz vardır [89].

Tip 1: DNA'nın bir iplikçığı üzerinde bulunan özgül dizileri tanırlar fakat tanıma dizileri haricinde tesadüfi olarak keser [90].

Tip 2: DNA üzerinde bulunan özgül dizileri tanırlar ve yakın bölgeden ya da dizi içinden keser. Rekombinant DNA teknolojisinde en çok tercih edilen tiptir [91].

Tip 3: Tip 1 enzimlerine benzer özelliğe sahiptirler fakat kesim yapma özellikleri daha zayıftır. DNA üzerinde bulunan özgül dizileri tanımlarına rağmen kesimi farklı bir bölgede yaparlar [92].

## **2.9. Real Time PCR (Erime Eğrisi -*Melting Curve*- Analizi)**

SNP / mutasyon tespiti için kullanılan gerçek zamanlı PZR-temelli yöntemdir. Bu yöntemle gen dizisi değişiklikleri saptanabilmektedir [93]. *Melting curve* analizi mutasyonların tespiti için esnek ve güçlü bir tarama yöntemi olarak kabul edilmektedir, bunun yanında zaman alıcı bir yöntem değildir. [94] Bu yöntemde genel olarak standart PZR yönteminde kullanılan bileşenler kullanılmakla birlikte farklı olarak flöresan ışımaya yapabilen "prob"lar kullanılmaktadır [95, 94]. Problar, ilgili varyantı kapsayacak şekilde tasarlanmıştır, ancak amplifikasyon işlemine katılmaz. Prob, hedef diziye hibridize olduğunda flöresan ışımaya yaymaktadır. Probu hibridize olduğu bölgedeki dizi değişiklikleri, probun hedef diziden ayrılması için gerekli olan sıcaklık derecelerinin değişiklik göstermesi ile sonuçlanmaktadır. Böylece hedef dizideki değişiklikler erime sıcaklıklarına bakılarak saptanabilmektedir [96].

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Etik Kurul Onayı

Bu çalışma (Proje No: KA 18/189) Başkent Üniversitesi Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulu ve Etik Kurulu tarafından onaylanmış ve Başkent Üniversitesi Araştırma fonunca desteklenmiştir.

#### 3.2. Hasta Grubu

Çalışmamızda KA17/341 numaralı projede kullanılan hasta ve kontrol grupları kullanılmıştır. Çalışmaya Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Ankara Hastanesi Pediatrik Nefroloji Bilim Dalı'nda takip edilmekte olan 0-18 yaş arasındaki 145 CAKUT tanılı hasta dahil edildi. Kontrol grubu için hastalar genel pediatri polikliniğine başvuran kişilerden seçilmiştir. Kontrol grubuna herhangi bir üriner sistem anomalisi bulunmayan benzer yaş ve cinsiyetteki 128 hasta alındı.

Hasta alt grupları hidronefroz, vezikoureteral reflü, idrar yolu enfeksiyonu, kronik böbrek yetmezliği, renal hipoplazi ve agenezi olarak belirlendi. Hasta bilgileri ek A'da verilmiştir.

Çalışma ve kontrol grubundaki hastaların izinleri onam formu okutulup imzalatılarak alınmıştır.

#### 3.3. Yöntem

Tez çalışmasında; STAT3 geninde bulunan c.-1915C>G, c.1671C>T, c.-1-13666T>C, c.273+314A>G/T varyantların saptanması ve bu varyantların CAKUT hastası ve kontrol grubu bireylerindeki allel sıklıklarının belirlenmesi için aşağıda belirtilen araç-gereçler ve yöntemler kullanılmıştır.

rs744166 ve rs4796793 numaralı polimorfizmler restriksiyon fragmanı uzunluk polimorfizmi (RFLP) yöntemiyle rs1053004 ve rs3816769 numaralı polimorfizmler ise *melting curve* yöntemi ile analiz edildi.

### 3.3.1. Kullanılan kimyasal malzemeler

- Bölgeye özgü primerler (2 çift)
- *HpyF10VI (MwoI)* Restriksiyon endonükleaz enzimi, Thermo Scientific™ Katalog No: ER1732
- *AluI* Restriksiyon endonükleaz enzimi, Thermo Scientific™ Katalog No: ER0012
- Bölgeye özgü Real time probu TIB Molbiol Katalog No: TIB RS1053004
- Bölgeye özgü Real time probu TIB Molbiol Katalog No: TIB RS3816769
- FastStart TIB 40-9999-02
- Agaroz Serva Katalog No: :11404
- 0,5X Tris-Cl borik asit EDTA (TBE) 40 mM Tris-Cl, pH 8.3. 45 mM borik asit. 1 mM EDTA
- Orange G
- EtBr (Etidyum Bromur)
- dNTP Thermo Scientific™ Katalog No: 10297018
- Hotstart Taq DNA Polimeraz qiagen Katalog No: 203203
- DNA molekül ağırlık belirteci 50bç Thermo Scientific™ Katalog No: SM0373
- DNA molekül ağırlık belirteci 100bç Thermo Scientific™ Katalog No: SM0242

### 3.3.2. Kullanılan alet ve cihazlar

- Real-time PCR Cihazı (Bio-Rad CFX96™)
- PZR Cihazı (Veriti™ 96-Well Thermal Cycler)
- Yatay elektroforez tankı (Clever Scientific)
- Elektroforez güç kaynağı (Consort)
- Jel görüntüleme sistemi (Syngene InGenius LHR)
- Mikro Pipet takımı (Eppendorf)
- Nanodrop 2000c (Thermo Scientific, USA)
- Buz makinesi (Elektrolux)
- Mini santrifüj (Biosan combispin FVL-2400N)



- Derin dondurucu (Arçelik)
- Ependorf Tüpü (1,5 ml lik)
- PZR tüpleri (0,2 ml ve 0,5 ml)
- Etüv

### **3.3.3. DNA örnekleri**

Bu çalışmada kullanılan DNA örnekleri ve hasta grubunun seçimi Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Ankara Hastanesi Pediatrik Nefroloji Bilim Dalı ile ortak olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kapsamında KA17/341 numaralı proje kapsamında periferik kandan izole edilmiş ve arşivlenmiş DNA örnekleri kullanılmıştır.

#### **3.3.3.1. DNA izolasyon yöntemi**

DNA örnekleri EDTA'lı tüplere alınan periferik kan örneklerinden Invitrogen PureLink™ Genomic DNA Mini Kiti kullanılarak izole edilmiştir. Uygulanan yöntem şu şekildedir;

1. 1,5 ml'lik ependorf tüplere 20 µl RNAz, 20 µl proteinaz K ve 200 µl periferik kan konuldu.
2. Örnekler karıştırıldı ve kısaca çöktürüldü.
3. Karışımın üzerine 200 µl *Genomic/Lysis Binding Buffer* ilave edilerek karıştırma ve çöktürme işlemi uygulandı.
4. 55°C derecede kuru ısı bloğunda 10 dakika inkübe edildi.
5. Karışımın üzerine 200 µl %100 etanol ilave edildikten sonra karıştırma ve çöktürme işlemi uygulandı.
6. Tüpteki karışımın tamamı kolona alınıp 11.000 rpm'de 1 dakika çöktürüldü.
7. Alt tüp atılıp kolon temiz tüpe yerleştirildi. 500 µl yıkama tamponu solüsyonu kolona ilave edilip 11.000 rpm'de 1 dakika çöktürüldü.
8. Alt tüp atılıp kolon temiz tüpe yerleştirildi. 500 µl yıkama tamponu 2 kolona ilave edilip 14000 rpm'de 3 dakika çöktürüldü.
9. Filtre temiz bir 1,5 ml ependorf tüpe yerleştirilip üzerine 100 µl elüsyon tamponu ilave edildi. Bir dakika oda sıcaklığında bekletildi.

10. Bekleme işleminden sonra 14.000 rpm’de 1 dakika çöktürüldü. Filtre atıldıktan sonra DNA elde edilmiş oldu.

### 3.3.3.2. DNA’nın konsantrasyon ve saflığının ölçümü

-20°C’de muhafaza edilen DNA örneklerinin miktar ve kalitesi Nanodrop 2000c (Thermo Scientific, USA) marka spektrofotometre kullanılarak ölçüldü.

### 3.3.4. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

Elde edilen DNA örneklerine Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) uygulandı. Kullanılan primerler, ürün uzunlukları ve TM dereceleri tablo 3’de verilmiştir.

**Tablo 3.** STAT3 geninde bulunan SNP’ler için kullanılan primer dizileri, amplicon uzunlukları ve TM dereceleri.

SNP	Forward/ Reverse Primer Dizileri	PCR Amplicon Uzunluğu(bç)	TM (°C)
rs4796793	FWD:5’- TCTGGTAGACACAGCTCAGTATGG _3’ RV: 5’- CCATAGTCGCAGAGGTAGATTTTA -3’	502 bç	57°C
rs744166	FWD:5’- TCAGCTGGAGTACAAACCCTG -3’ RV: 5’- TTACAGAGCTACATGTGATGGGA -3’	329 bç	60 °C

*FWD: Forward, RV: Reverse*

**Tablo 4.** STAT3 geninde bulunan rs4796793 ve rs744166 polimorfizmleri için uygulanan PZR içeriği

	Konsantrasyon	Son Konsantrasyon
10X Standart Taq Reaksiyon Tamponu	10x	1x
10 mM dNTPs	10mM	0.1 mM
Forward Primer	10µM	0.4 µM
Reverse Primer	10µM	0.4 µM
Taq DNA Polymerase	10µM	0.03 U/µl
DNA		100 ng

Uygulanan termal profiller ise şu şekildedir;

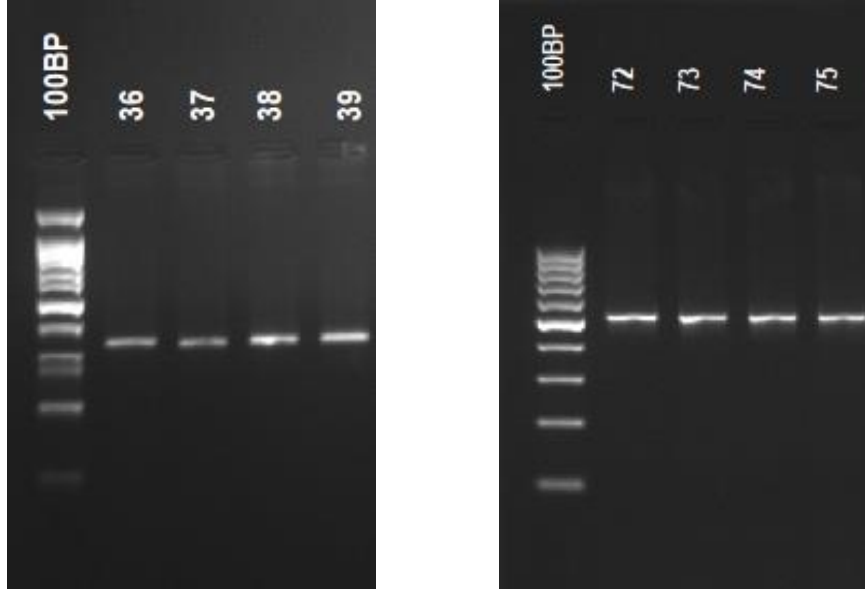
94 °C.	5 dk		
94 °C.	30 sn	}	40 Döngü
57 °C.	30 sn		
68 °C.	30 sn		
68 °C.	30 sn		
+4 °C	∞		

Şekil 4. c.-1-13666T>C (rs744166) için uygulanan termal profil

94 °C.	5 dk		
94 °C.	30 sn	}	40 Döngü
60 °C.	30 sn		
68 °C.	30 sn		
68 °C.	30 sn		
+4 °C	∞		

Şekil 5. c.-1915C>G (rs4796793) için; uygulanan termal profil

Elde edilen PZR ürünleri jel elektroforez yöntemi ile kontrol edildi. Agaroz jel elektroforezi sonucunda beklenen uzunlukta ürün boyu olan PZR ürünleri ile bir sonraki aşamaya geçildi.



**A**

**B**

**Şekil 6.** *STAT3* geninde PZR-RFLP yöntemi ile analiz edilen rs744166 ve rs4796793 polimorfizmleri için PZR ile elde edilen ampliconlara ait agaroz jel elektroforezi görüntüsü (A) *STAT3* geni c.-1-13666T>C (rs744166) PZR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü. c.-1-13666T> C (rs744166) bölgesini içeren amplifikasyon ürünü (329 bp). (B) *STAT3* geni c.-1915C>G (rs4796793) PZR ürünlerinin jel elektroforez görüntüsü. c.-1915C>G (rs4796793) bölgesini içeren amplifikasyon ürünü (502 bp). (100 bp: 100 bç molekül ağırlık belirteci)

### 3.3.5. Restriksiyon fragmanı uzunluk polimorfizmi (RFLP)

**Tablo 5.** RFLP analizinde kullanılan restriksiyon endonükleaz enzimleri, kesim paternleri, inkübasyon süreleri ve inkübasyon sıcaklık dereceleri.

SNP	Restriksiyon Endonükleaz	Kesim Paternleri (bç)	İnkübasyon Süresi	İnkübasyon Sıcaklığı
rs744166	<i>AluI</i>	TT 216, 101, 8, 4	16 saat	37 °C
		CT 317, 216, 101, 8, 4		
		CC 317, 8, 4		
rs4796793	<i>MwoI</i>	CC 302, 200	15 dakika	60 °C
		GC 502, 302, 200		
		GG 502		

bç: baz çifti

**Tablo 6.** rs744166 ve rs4796793 numaralı SNP'ler için uygulanan RFLP reaksiyonu içeriği

	<b>rs744166 (AluI)</b>	<b>rs4796793 (MwoI)</b>
<b>Enzim</b>	1 µl	1 µl
<b>10X Tampon</b>	2 µl	2 µl
<b>PZR Ürünü</b>	10 µl	10 µl
<b>Nükleaz içermeyen su</b>	7 µl	7 µl

PCR ürünleri, hazırlanan bu kesim içerikleri ile 37°C'de 16 saat (rs744166), 60 °C'de 15 dakika (rs4796793) kesime maruz bırakıldı. Kesim ürünleri agaroz jel elektroforezi yöntemi ile analiz edildi.

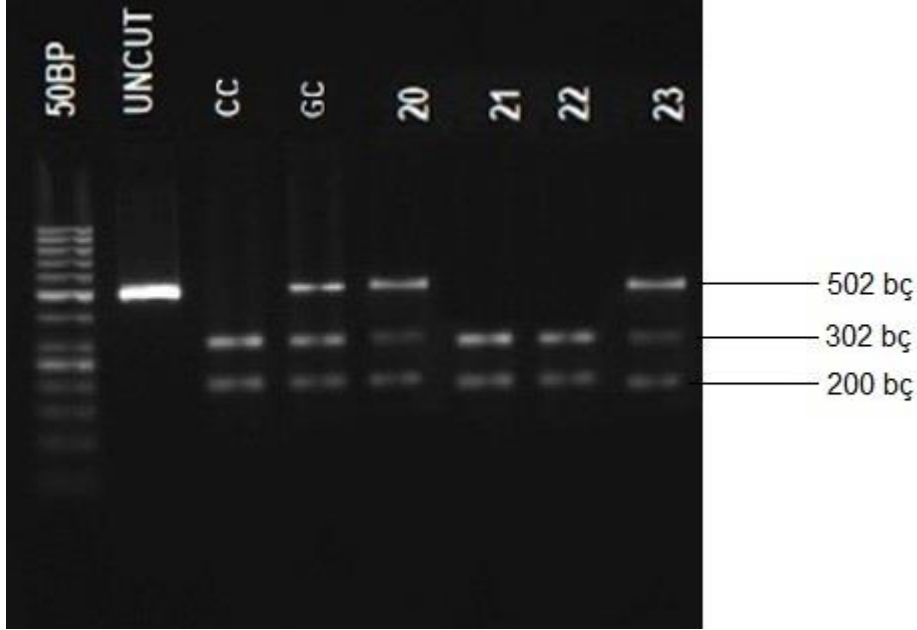
### **3.3.6. Jel elektroforezi**

RFLP işleminden sonra kesim ürünleri jel elektroforezi yöntemi ile analiz edildi. Ürünlerdeki kesim paternlerine göre homozigot, heterozigot veya yabancı tipte (wild type) allel olduğuna karar verildi.

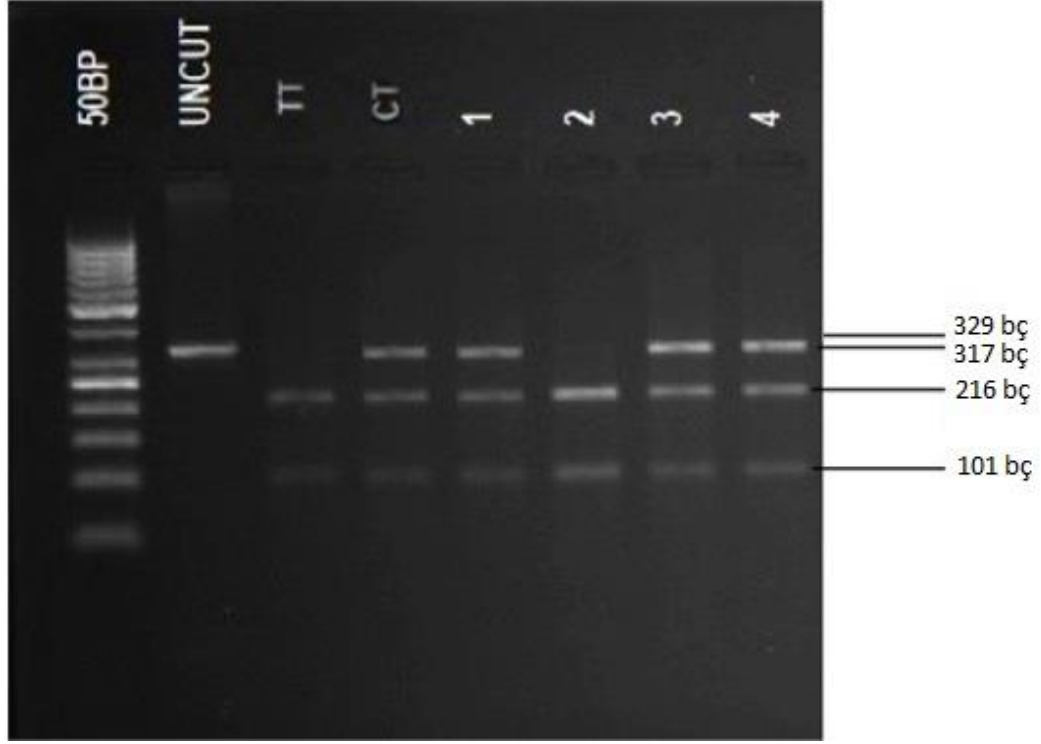
Uygulanan yöntem şu şekildedir;

1. RFLP sonrası kesim ürünleri %2'lik agaroz jel ile analiz edildi.
2. %2 lik agaroz jel için 2 gram agaroz tartılıp 100 ml 0.5X TBE tampon çözeltisi ile sulandırıldı.
3. Hazırlanan çözeltiyi homojen hale getirebilmek için mikrodalga fırın kullanıldı. (Yaklaşık 1 dk)
4. Bu işlem sırasında köpürüp taşma ihtimaline karşı çözelti ara ara kontrol edildi.
5. Süre sonunda çözelti homojen hale geldi ise soğumaya bırakıldı.
6. Ilıklaşan çözeltinin içerisine 2 µL Etiyum bromür (EtBr) eklendi ve homojen halde dağılması için bir süre karıştırıldı.
7. Jelin polimerize olması için hazırlanan tabağa döküldü ve yükleme yapılması için kuyucukları oluşturmak üzere tarak takıldı.
8. Jel, polimerize olması için yaklaşık 20 dakika bekletildi.
9. Kullanılacak tankın için 0.5X TBE eklendi.
10. Polimerize olan jelden, kuyucuklara zarar vermemeye özen gösterilerek tarak çıkartıldı.

11. RFLP sonrası yapılan elektroforez işlemi için ilk kuyuya DNA ladder yüklendi. İkinci kuyuya kesilmemiş PZR ürünü yüklendi (uncut). Üçüncü kuyuya homozigot, dördüncü kuyuya ise heterozigot olduğuna bildiğimiz ürünü yükledik. Geriye kalan kuyulara ise örnekler yüklendi.



**Şekil 7.** rs4796793 (502 bç) MwoI restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesim paternlerinin görüntüsü. (Uncut kesilmemiş PZR ürünü (502 bç), CC genotipi (302, 200 bç), GC genotipi (502, 302, 200 bç) bç:baz çifti



**Şekil 8.** rs744166 (329 bç) AluI restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesim paternlerinin görüntüsü. (Uncut kesilmemiş PZR ürünü (329 bç), TT genotipi (216,101 bç), CT genotipi (329,317,216,101 bç) bç: baz çifti

### 3.3.7. Real time PZR (*Melting Curve*)

Her kuyucuk için 20 µl hacminde real time PCR reaksiyon karışımı hazırlandı. Karışım şu şekildedir;

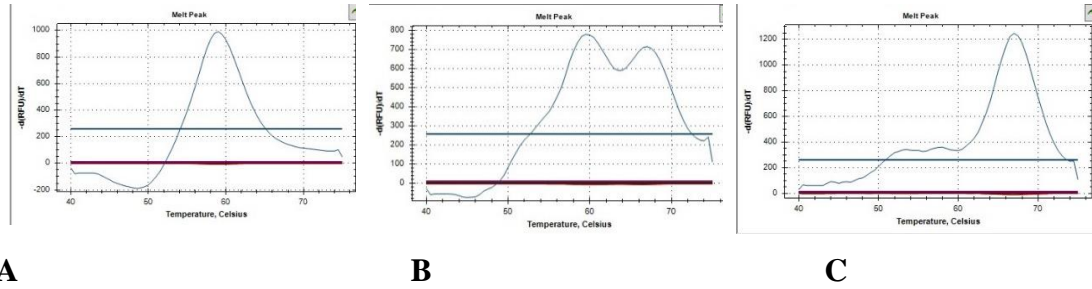
**Tablo 7.** *STAT3* geninde bulunan rs1053004 ve rs3816769 için *Melting Curve* reaksiyon içeriği

	Konsantrasyon	Son Konsantrasyon
FastStart DNA Master <sup>(1)</sup>	10x	1x
<i>Reagent Mix</i>	2,5mM	0.1 mM
MgCl <sub>2</sub>	25mM	1 mM
H <sub>2</sub> O	10µM	0.4 µM
DNA		100 ng
Toplam Hacim 25µl		

<sup>(1)</sup> LightCycler® FastStart DNA Master HybProbe (Roche Diagnostics)

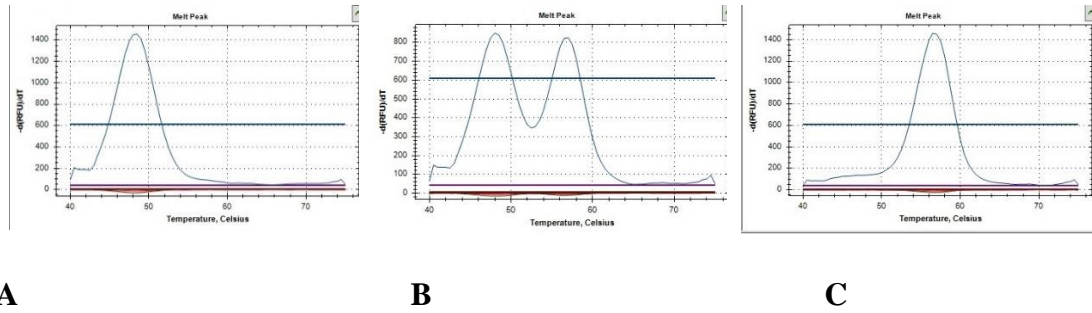
*Melting curve* analizi, 95°C'de 10 dakika denatürasyonun, ardından hibridizasyon ve ardından 0,5°C/s'lik artış hızı ile 40°C'den 75°C'ye kademeli sıcaklık artışı ile gerçekleştirildi. *Melting curve* analizi sırasında sadece FAM kanalından gelen flöresans her aşamada ölçülmüştür. Her prob için Tm değeri, karşılık gelen erime eğrisinin tepe noktası tanımlanarak otomatik olarak elde edildi.

**Tablo 8.** rs1053004 numaralı SNP'de bulunan genotiplerin melting curve yöntemi ile saptanmış görüntüsü.



A: CC genotipi TM: 62,35, B: CT genotipi TM: 62,35 ve 68,99, C: TT genotipi TM: 68,99

**Tablo 9.** rs3816769 numaralı SNP'de bulunan genotiplerin melting curve yöntemi ile saptanmış görüntüsü.



A: TT genotipi TM: 50,05, B: TC genotipi TM: 50,05 ve 58,33, C: CC genotipi TM: 58,33

### 3.3.8. İstatistiksel analiz

Çalışmada tanımlayıcı istatistik olarak sayısal değişkenler için parametrik test varsayımları sağlanmadığından medyan(minimum-maksimum); kategorik değişkenler için frekans (n) ve yüzde (%) verilmiştir. Kategorik veriler arasında bağımlılık durumunun değerlendirilmesinde varsayımlara bağlı olarak Pearson Ki-kare testi ya da Fisher-Freeman-Halton Kesin Testi kullanılmıştır. Hastalarda allel grupları arasında incelenen



ölçümler açısından anlamlı farklılık olup olmadığı parametrik olmayan testlerden Kruskal-Wallis Testi ile analiz edilmiştir. Tüm analizlerde I. Tip hata olasılığı 0,05 olarak belirlenmiştir. Analizlerin tamamı IBM SPSS V25 programı kullanılarak yapılmıştır.

## 4. BULGULAR

Çalışma grubu hasta ve kontrol grubu dahil 273 kişiden oluşmaktadır. Hasta ve kontrol grubundaki kişilerin yaş aralığı 0 ile 18 arasında değişmektedir.

Hasta grubunda 75 erkek 70 kız bulunmaktadır. Kontrol grubunda ise 68 erkek 60 kız bulunmaktadır.

**Tablo 10.** Hasta ve kontrol gruplarının cinsiyete göre dağılımı

		<b>Kontrol</b>	<b>Hasta</b>	<b>Toplam</b>
<b>Cinsiyet</b>	<b>K</b>	60	70	130
	<b>E</b>	68	75	143
<b>Toplam</b>		128	145	273

*K: Kadın E: Erkek*

**Tablo 11.** Hasta grubunun aldıkları tanılara göre gruplandırılması

	Sayı (n) (%)	Cinsiyet (E / K)	Tanı Yaşı (Ortalama)
<b>Hidronefroz</b>	32 (%22,1)	24 / 8	~25,3 Ay (2,1091 Yıl)
<b>Vezikoüreteral reflü</b>	41 (%28,3)	14 / 27	~51,4 Ay (4,2864 Yıl)
<b>Kronik böbrek yetmezliği</b>	21 (%14,4)	15 / 6	~94,8 Ay (7,9007 Yıl)
<b>Renal hipoplazi, renal displazi, renal agenezi</b>	20 (%13,8)	13 / 7	~73,4 Ay (6,1249 Yıl)
<b>İdrar yolu enfeksiyonu</b>	31 (%21,4)	9 / 22	~55,9 Ay (4,6665 Yıl)
<b>Toplam</b>	145 (%100)	75 / 70	~60.16 Ay (5,0175 Yıl)

Konjenital böbrek ve üriner kanal anomalisi (CAKUT) başlığı altında toplanan hasta grubumuzda hidronefroz tanısı alan 32, vezikoüreteral reflü tanısı alan 41, kronik böbrek yetmezliği tanısı alan 21, renal hipoplazi, renal displazi, renal agenezi tanısı alan 20, idrar yolu enfeksiyonu tanısı alan 31 hasta vardır.

CAKUT tanısı almış hastaların ve kontrol bireylerinin rs1053004 nolu SNP için saptanan genotip frekanslarının dağılımı Tablo 12’de verilmiştir.

**Tablo 12.** rs1053004 numaralı SNP’de saptanan genotip frekanslarının hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımı

	<b>Genotip</b>	<b>Kontrol</b>	<b>Hasta</b>	<b>p değeri</b>
<b>rs1053004</b>	<b>CC</b>	13 (%10,2)	13 (%9,0)	0.816
	<b>CT</b>	57 (%44,5)	70 (%48,3)	
	<b>TT</b>	58 (%45,3)	62 (%42,8)	

**Tablo 13.** rs1053004 numaralı SNP’de saptanan allel frekanslarının hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımı

	<b>Allel</b>	<b>Kontrol (n)</b>	<b>Hasta (n)</b>
<b>rs1053004</b>	<b>C</b>	83	96
	<b>T</b>	173	194

Hasta ve kontrol grupları ile rs1053004 genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir bağımlılık yoktur ( $p=0,816$ ). Kontrol grubunun %44,5’i CT genotipine sahipken hasta grubunun %48,3’ü CT genotipine sahip olduğu görülmektedir. Kontrol grubunun %45,3’ü TT genotipine sahipken hasta grubunun %42,8’i TT genotipine sahip olduğu görülmektedir. Kontrol grubunun %10,2’si CC genotipine sahipken hasta grubunun %9,0’u CC genotipine sahip olduğu görülmektedir.

CAKUT tanısı almış hastaların ve kontrol bireylerinin rs3816769 nolu SNP’de saptanan genotip frekanslarının dağılımı Tablo 14’de verilmiştir.

**Tablo 14.** rs3816769 numaralı SNP’de saptanan genotip frekanslarının hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımı

	<b>Genotip</b>	<b>Kontrol</b>	<b>Hasta</b>	<b>p değeri</b>
<b>rs3816769</b>	<b>TT</b>	56 (%43,8)	68 (%46,9)	0.491
	<b>TC</b>	65 (%50,8)	65 (%44,8)	
	<b>CC</b>	7 (%5,5)	12 (%8,3)	

**Tablo 15.** rs3816769 numaralı SNP’de saptanan allel frekanslarının hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımı

	<b>Allel</b>	<b>Kontrol</b>	<b>Hasta</b>
<b>rs3816769</b>	<b>T</b>	177	201
	<b>C</b>	79	89

Hasta ve Kontrol grupları ile rs4796793 genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir bağımlılık yoktur ( $p=0,491$ ). Kontrol grubunun %50,8’i TC genotipine sahipken hasta grubunun %44,8’i TC genotipine sahip olduğu görülmektedir. Kontrol grubunun %43,8’i TT genotipine sahipken hasta grubunun %46,9’u TT genotipine sahip olduğu görülmektedir. Kontrol grubunun %5,5’i CC genotipine sahipken hasta grubunun %8,3’ü CC genotipine sahip olduğu görülmektedir.

CAKUT tanısı almış hastaların ve kontrol bireylerinin rs4796793 nolu SNP’de saptanan genotip frekanslarının dağılımı Tablo 16’da verilmiştir.

**Tablo 16.** rs4796793 numaralı SNP’de saptanan genotip frekanslarının hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımı

	<b>Genotip</b>	<b>Kontrol</b>	<b>Hasta</b>	<b>p değeri</b>
<b>rs4796793</b>	<b>GG</b>	5 (%3,9)	6 (%4,1)	0.440
	<b>CG</b>	51 (%39,8)	47 (%32,4)	
	<b>CC</b>	72 (%56,3)	92 (%63,4)	

**Tablo 17.** rs4796793 numaralı SNP’de saptanan allel frekanslarının hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımı

	<b>Allel</b>	<b>Kontrol</b>	<b>Hasta</b>
<b>rs4796793</b>	<b>C</b>	195	231
	<b>G</b>	61	59

Hasta ve Kontrol grupları ile rs4796793 genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir bağımlılık yoktur ( $p=0,440$ ). Kontrol grubunun %56,3’ü CC genotipine sahipken hasta grubunun %63,4’ü CC genotipine sahip olduğu görülmektedir. Kontrol grubunun %39,8’i CG genotipine sahipken hasta grubunun %32,4’ü CG

genotipine sahip olduğu görülmektedir. Kontrol grubunun %3,9'u GG genotipine sahipken hasta grubunun %4,1'i GG genotipine sahip olduğu görülmektedir.

CAKUT tanısı almış hastaların ve kontrol bireylerinin rs744166 nolu SNP'de saptanan genotip frekanslarının dağılımı Tablo 18'de verilmiştir.

**Tablo 18.** rs744166 numaralı SNP'de saptanan genotip frekanslarının hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımı

		Kontrol	Hasta	p değeri
<b>rs744166</b>	<b>TT</b>	11 (%8,6)	15 (%10,3)	0.788
	<b>TC</b>	63 (%49,2)	66 (%45,5)	
	<b>CC</b>	54 (%42,2)	64 (%44,1)	

**Tablo 19.** rs744166 numaralı SNP'de saptanan allel frekanslarının hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımı

		Kontrol	Hasta
<b>rs744166</b>	<b>T</b>	85	96
	<b>C</b>	171	194

Hasta ve Kontrol grupları ile rs744166 genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir bağımlılık yoktur ( $p=0,788$ ). Kontrol grubunun %8,6'si TT genotipine sahipken hasta grubunun %10,3'ü TT genotipine sahip olduğu görülmektedir. Kontrol grubunun %49,2'si TC genotipine sahipken hasta grubunun %45,5'i TC genotipine sahip olduğu görülmektedir. Kontrol grubunun %42,2'si CC genotipine sahipken hasta grubunun %44,1,3'i CC genotipine sahip olduğu görülmektedir.

Allel ve genotip görülme sıklıklarını hasta ve kontrol gruplarında Hardy-Weinberg dengesi ile uyumluluğu test edildi [97] (Tablo 20). rs3816769 polimorfizmi için kontrol grubunda saptanan genotip dağılımının Hardy-Weinberg dengesi ile uyumlu olmadığı onun dışındaki bütün genotip dağılımlarının uyumlu olduğu saptandı.

**Tablo 20.** Genotip görölme sıklıklarını hasta ve kontrol gruplarında Hardy-Weinberg denge methoduna göre hesaplanması. <0,05 olan değer Hardy-Weinberg dengesinden saptığını göstermektedir.

	<b>Kontrol</b>	<b>Hasta</b>
<b>rs1053004</b>	0,85	0,28
<b>rs3816769</b>	0,03	0,52
<b>rs744166</b>	0,22	0,74
<b>rs4796793</b>	0,27	0,99

CAKUT genel başlığı altında toplanan hastalar almış oldukları tanılara göre alt gruplara ayrıldı. Böylelikle hasta kontrol grupları arasındaki karşılaştırmaların daha homojen olan hasta grubu ile kontrol grubu arasında yapılması sağlanmaya çalışıldı. CAKUT alt grupları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında alt gruplar ile kontrol bireylerinin taşıdıkları genotipler arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Hasta alt gruplarının ve kontrol grubundaki kişilerin rs1053004 nolu SNP’de saptanan genotip frekanslarının dağılımı Tablo 21’de verilmiştir.

Hasta alt grupları (Tüm hastalık grupları-Kontrol) ile rs1053004 genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir bağımlılık yoktur ( $p=0,635$ ). Örneğin kontrol grubunun %44,5’i CT genotipine sahipken Hidronefroz grubunun %40,6’sı CT genotipine, Vezikoüreteral reflü grubunun %48,8’i CT genotipine, idrar yolu enfeksiyonu grubunun %41,9’u CT genotipine, kronik böbrek yetmezliği grubunun %38,1’i CT genotipine ve renal hipoplazi, displazi ve agnezi grubunun %80,0’i CT genotipine sahip olduğu görölmektedir.

**Tablo 21.** Hasta alt grupları (Tüm hastalık grupları-Kontrol) ile rs1053004 genotiplerinin dağılımı.

	Genotip	Kontrol (n) (%)	Hidronefroz (n) (%)	VUR (n) (%)	İYE (n) (%)	KBY (n) (%)	Renal Hipoplazi ve Agenezi (n) (%)
rs1053004	CC	13 (10,2%)	6 (18,8%)	0 (0,0%)	3 (9,7%)	4 (19,0%)	0 (0,0%)
	CT	57 (44,5%)	13 (40,6%)	20 (48,8%)	13 (41,9%)	8 (38,1%)	16 (80,0%)
	TT	58 (%45,3)	13 (%40,6)	21 (%51,2)	15 (%48,4)	9 (%42,9)	4 (%20,0)

*İYE: İdrar yolu enfeksiyonu, KBY: Kronik böbrek yetmezliği, VUR: Vezikoüreteral reflü*

Hasta alt grupları (Tüm hastalık grupları-Kontrol) ile rs3816769 genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir bağımlılık yoktur ( $p=0,635$ ). Örneğin kontrol grubunun %50,8'inde CT genotipine sahipken hidronefroz grubunun %46,9'u CT genotipine, vezikoüreteral reflü grubunun %41,9'u CT genotipine, idrar yolu enfeksiyonu grubunun %41,9'u CT genotipine, kronik böbrek yetmezliği grubunun %38,1'i CT genotipine ve renal hipoplazi, displazi ve agenezi grubunun %55,0'i CT genotipine sahip olduğu görülmektedir.

**Tablo 22.** Hasta alt grupları (Tüm hastalık grupları-Kontrol) ile rs3816769 genotiplerinin dağılımı.

	Genotip	Kontrol (n) (%)	Hidronefroz (n) (%)	VUR (n) (%)	İYE (n) (%)	KBY (n) (%)	Renal Hipoplazi ve Agenezi (n) (%)
rs3816769	TT	56 (%43,8)	13 (%40,6)	23 (%56,1)	16 (%51,6)	8 (%38,1)	8 (%40,0)
	TC	65 (50,8%)	15 (46,9%)	18 (43,9%)	13 (41,9%)	8 (38,1%)	11 (55,0%)
	CC	7 (%5,5)	4 (%12,5)	0 (%0,0)	2 (%6,5)	5 (%23,8)	1 (%5,0)

İYE: İdrar yolu enfeksiyonu, KBY: Kronik böbrek yetmezliği, VUR: Vezikoüreteral reflü

Hasta alt grupları (Tüm hastalık grupları-Kontrol) ile rs4796793 genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir bağımlılık yoktur. Örneğin kontrol grubunun %56,3'ünde CC genotipine sahipken hidronefroz grubunun %53,1'i CC genotipine, vezikoüreteral reflü grubunun %63,4'ü CC genotipine, idrar yolu enfeksiyonu grubunun %67,7'si CC genotipine, kronik böbrek yetmezliği grubunun %66,7'si CC genotipine ve renal hipoplazi, displazi ve agenezi grubunun %70,0'i CC genotipine sahip olduğu görülmektedir.



**Tablo 23.** Hasta alt grupları (Tüm hastalık grupları-Kontrol) ile rs4796793 genotiplerinin dağılımı.

	Genotip	Kontrol (n) (%)	Hidronefroz (n) (%)	VUR (n) (%)	İYE (n) (%)	KBY (n) (%)	Renal Hipoplazi ve Agenezi (n) (%)
rs4796793	CC	72 (%56,3)	17 (%53,1)	26 (%63,4)	21 (%67,7)	14 (%66,7)	14 (%70,0)
	CG	51 (39,8%)	12 (37,5%)	15 (36,6%)	9 (29,0%)	9 (29,0%)	5 (25,0%)
	GG	5 (3,9%)	3 (9,4%)	0 (0,0%)	1 (3,2%)	1 (3,2%)	1 (5,0%)

İYE: İdrar yolu enfeksiyonu, KBY: Kronik böbrek yetmezliği, VUR: Vezikoüreteral reflü

Hasta alt gruplarının ve kontrol grubundaki kişilerin rs744166 nolu SNP’de saptanan genotip frekanslarının dağılımı Tablo 24’de verilmiştir.

Hasta alt grupları (Tüm hastalık grupları-Kontrol) ile rs744166 genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir bağımlılık yoktur. Örneğin kontrol grubunun %42,2’sinde CC genotipine sahipken hidronefroz grubunun %37,5’i CC genotipine, Vezikoüreteral reflü grubunun %56,1’i CC genotipine, idrar yolu enfeksiyonu grubunun %45,2’si CC genotipine, kronik böbrek yetmezliği grubunun %38,1’i CC genotipine ve renal hipoplazi, displazi ve agenezi grubunun %35,0’i CC genotipine sahip olduğu görülmektedir.

**Tablo 24.** Hasta alt grupları (Tüm hastalık grupları-Kontrol) ile rs744166 genotiplerinin dağılımı.

	Genotip	Kontrol (n) (%)	Hidronefroz (n) (%)	VUR (n) (%)	İYE (n) (%)	KBY (n) (%)	Renal Hipoplazi ve Agenezi (n) (%)
rs744166	TT	11 (%8,6)	4 (%12,5)	2 (%4,9)	2 (%6,5)	5 (%23,8)	2 (%10,0)
	TC	63 (%49,2)	16 (%50,0)	16 (%39,0)	15 (%48,4)	8 (%38,1)	11 (%55,0)
	CC	54 (%42,2)	12 (%37,5)	23 (%56,1)	14 (%45,2)	8 (%38,1)	7 (%35,0)

İYE: İdrar yolu enfeksiyonu, KBY: Kronik böbrek yetmezliği, VUR: Vezikoüreteral reflü

Cinsiyete göre hastalık görülme sıklıkları analiz edildiğinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu gözlemlendi. Tablo 25’ de cinsiyet ve hastalık görülme sıklıkları verilmiştir.

**Tablo 25.** Genel hasta grubu ve kontrol grubu arasında hastalık görülme sıklığının cinsiyete göre dağılımı

		Kontrol	Hasta
Cinsiyet	K	60 (%46,9)	70 (%48,3)
	E	68 (%53,1)	75 (%51,7)

K: Kadın E: Erkek

Genel hasta grubu ve kontrol grubu arasında hastalık görülme sıklığının cinsiyete göre dağılımına baktığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamamıştır.

Hasta alt gruplarına bakıldığında ise bazı endikasyonların cinsiyete bağlı görülme sıklıklarında bir farklılık olduğu gözlenmektedir. Vezikoüreteral reflü tanılı hastalarının %65,9’unu, idrar yolu enfeksiyonu tanılı hastaların %71’ini kadınlar

oluştururken hidronefroz tanılı hastaların %75'ini, kronik böbrek yetmezliği tanılı hastaların %71,4'ünü, renal agenezi, displazi ve hipoplazi tanılı hastaların %65'ini erkekler oluşturmaktadır.

**Tablo 26.** Hasta alt grupları ile kontrol grubu arasındaki cinsiyet dağılımı

Cinsiyet	Kontrol (n) (%)	Hidronefroz (n) (%)	VUR (n) (%)	İYE (n) (%)	KBY (n) (%)	Renal Hipoplazi ve Agenezi (n) (%)
K	60 (%46,9)	8 (%25,0)	27 (%65,9)	22 (%71,0)	6 (%28,6)	7 (%35,0)
E	68 (%53,1)	24 (%75,0)	14 (%34,1)	9 (%29,0)	15 (%71,4)	13 (%65,0)
<b>Toplam</b>	128	32	41	31	21	20

*İYE: İdrar yolu enfeksiyonu, KBY: Kronik böbrek yetmezliği, VUR: Vezikoüreteral reflü*

Hasta grubunda genotip ile cinsiyet arasında bir ilişki olup olmadığı incelendi. Elde edilen sonuçlara göre hastaların cinsiyeti ile genotipleri arasında anlamlı bir fark bulunamadı.

**Tablo 27.** rs744166, rs4796793, rs1053004 ve numaralı SNP’lerdeki genotipler ile cinsiyet arasındaki dağılım

SNP	Genotip	Kadın	Erkek	p değeri
rs744166	TT	4 (%6,7)	7 (%10,3)	0,729
	TC	31 (%51,7)	32 (%47,1)	
	CC	25 (%41,7)	29 (%42,6)	
rs4796793	CC	36 (%60,0)	36 (%52,9)	0,585
	CG	20 (%33,3)	31 (%45,6)	
	GG	4 (%6,7)	5 (%3,9)	
rs1053004	CT	25 (%41,7)	32 (%47,1)	0,570
	TT	20 (%33,3)	28 (%41,2)	
	CC	4 (%6,7)	8 (%11,8)	
rs3816769	TC	31 (%51,7)	34 (%50,0)	0,607
	TT	27 (%45,0)	29 (%42,6)	
	CC	2 (%3,3)	5 (%7,4)	

Genotip grupları arasında tanı yaşı açısından anlamlı bir farklılık olup olmadığı incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre hastaların tanı yaşı açısından genotip grupları arasında anlamlı bir fark bulunamadı.

**Tablo 28.** rs744166 nolu SNP’de genotip görülme sıklıkları ve tanı yaşları verilmektedir

		TT (n=15) (min-maks)	TC (n=66) (min-maks)	CC (n=64) (min-maks)	p değeri
rs744166	Tanı Yaşı	7 (0,008-17)	2 (0,008-18)	3 (0,008-16)	0,324

Gruplar arasında (TT, TC, CC) tanı yaşı dağılımı açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır (p=0,324).

**Tablo 29.** rs4796793 nolu SNP’de genotip görülme sıklıkları ve tanı yaşları verilmektedir

		<b>CC</b> <b>(n=92)</b> <b>(min-maks)</b>	<b>CG</b> <b>(n=47)</b> <b>(min-maks)</b>	<b>GG</b> <b>(n=6)</b> <b>(min-maks)</b>	<b>p değeri</b>
<b>rs4796793</b>	<b>Tanı Yaşı</b>	3 (0,008-16)	2 (0,008-18)	1.5 (0,008-13)	0,741

Gruplar arasında (CC, GC, GG) tanı yaşı dağılımı açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır (p=0,741).

**Tablo 30.** rs1053004 nolu SNP’de genotip görülme sıklıkları ve tanı yaşları verilmektedir

		<b>CT</b> <b>(n=70)</b> <b>(min-maks)</b>	<b>TT</b> <b>(n=62)</b> <b>(min-maks)</b>	<b>CC</b> <b>(n=13)</b> <b>(min-maks)</b>	<b>p değeri</b>
<b>rs1053004</b>	<b>Tanı Yaşı</b>	3 (0,008-18)	3 (0,008-16)	2 (0,008-17)	0,792

Gruplar arasında (TT, CT, CC) tanı yaşı dağılımı açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır (p=0,792).

**Tablo 31.** rs3816769 nolu SNP’de genotip görülme sıklıkları ve tanı yaşları verilmektedir

		<b>TC</b> <b>(n=65)</b> <b>(min-maks)</b>	<b>TT</b> <b>(n=68)</b> <b>(min-maks)</b>	<b>CC</b> <b>(n=12)</b> <b>(min-maks)</b>	<b>p değeri</b>
<b>rs3816769</b>	<b>Tanı Yaşı</b>	3 (0,008-18)	2.5 (0,008-16)	3.5 (0,008-17)	0,832

Gruplar arasında (TC, TT, CC) tanı yaşı dağılımı açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır (p=0,832)

## 5. TARTIŞMA

Konjenital böbrek ve üriner kanal anomalisi (CAKUT) böbrek agenezisi, böbrek displazisi, renal hipoplazi, hidronefroz, hidroüreter ve Vezikoüreteral reflü de dahil olmak üzere idrar yollarının morfogenezindeki bozukluklardan kaynaklanan çeşitli yapısal malformasyonları içerir [3]. Her bir fenotip kendi başına nadir olmakla beraber, fenotipler bir arada değerlendirildiğinde her 1000 canlı doğumun 3-6'sında CAKUT gözlenmektedir [4]. Olguların yaklaşık %50'sinde alt üriner sistem anomalisi mevcuttur. Diyaliz veya böbrek nakli gerektiren kronik böbrek hastası (KBH) çocukların yaklaşık %50'sinde kliniğin CAKUT nedeniyle ortaya çıktığı belirtilmektedir [98, 5].

Bugüne kadar yaklaşık 36 genin CAKUT kliniği ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte CAKUT veya ekstra renal bulgularla seyreden CAKUT hastalarının sadece %20'sinde söz konusu 36 gende mutasyon saptanmıştır [4, 5]. Bu veriler CAKUT'ta yüksek genetik heterojenitenin varlığını işaret etmektedir.

İnsan böbreğinin gelişimi beşinci haftada *intermediate* mezodermden köken alan nefrik kanalda (NK), üreterik tomurcuğun (UT) gelişmesi ile başlar. Üreterik tomurcukdaki epitel hücreler ile çevresindeki mezenkimal hücreler etkileşerek üriner sistemi oluştururlar. Bu aşamada birçok büyüme faktörü, matris molekülleri ve transkripsiyon faktörleri görev alır. *PAX2*, *EYAI*, *SIX1*, *SIX2*, *SALL1*, *FOXC1*, *WT1* ve *HOX11* genleri gibi erken böbrek gelişiminde çok önemli rol oynayan genlerin çoğu, mezenkimde ifade edilir. İnsanlarda bu genlerin bir kısmında oluşan mutasyonlar böbrek hastalıklarıyla ilişkilidir [6, 36, 35].

*STAT3*, bir transkripsiyon faktörü olarak omurgalı gelişiminde, inflamasyonda ve bağışıklığın kontrolü dâhil olmak üzere farklılaşmış doku fonksiyonlarında kilit role sahiptir. İnsanda *STAT3* varyasyonlarının otoimmünite ve kanser gibi hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir [18, 19]. Tümör gelişimi ve organ gelişimi; hücre büyümesi, bölünmesi, farklılaşması ve damar yapılarının yeniden yapılandırılması dâhil pek çok yönden benzer adımları paylaşır. Bu nedenle, erişkin yaşamda malign oluşumlara sebep olabilen değişiklikler embriyonik dönemde oluştuğunda morfogenez ve organogenez hatalarına sebep olabilmektedir [99]. Örneğin renin–angiotensin

sistem (RAS) hücre dışı hacim ve tuz metabolizmasının kontrolünde, kan basıncının düzenlenmesinde ve böbrek gelişiminde dolaylı olarak görev alır. Bunun yanında RAS'da meydana gelebilecek bir hata kanser oluşumuna neden olabilmektedir [100].

*STAT3*'ün böbrek gelişimi ve anomalileri ile ilişkili olabileceğini gösteren çok sayıda yayın bulunmaktadır. *GDNF*, *RET*, *WNT*, *HOX11* gibi böbrek gelişiminde rol oynayan genler *STAT3* geninin ifadenmesinde rol oynamaktadır. *STAT3* geninin ifadenmesinde ortaya çıkacak hataların böbrek gelişiminde ve böbrekte ortaya çıkacak hastalıklarla ilişkili olabileceği gösterilmiştir.

*STAT3* geninin 3' UTR bölgesinde yer alan rs1053004 (c.1671C>T) numaralı SNP'nin *STAT3*'ün ifadenmesini etkileyebileceği düşünülmektedir. 3'UTR bölgesinde genellikle transkripsiyon sonrası gen ifadenmesini düzenleyen elementlerin bağlanma bölgeleri yer alır. rs1053004 numaralı SNP'nin bulunduğu konumda çok sayıda miRNA'nın bağlanma bölgesinin bulunduğu rapor edilmiştir. Bu miRNA'lardan bazıları miR423-5p, hsa-miR-31-5p, hsa-miR-99b-3p'dir. Literatürde yer verilmeyen fakat *in silico* analizler sonucu bulduğumuz miRNA'lar ise hsa-mir-4633, hsa-miR-4433-3p, hsa-mir-513a-1, hsa-mir-4285, hsa-miR-3676-5p, hsa-mir-3612, hsa-mir-99a'dır [101]. Belirtilen miRNA'ların böbrekte ifadelendiği rapor edilmiştir [102].

miR423-5p ile ilgili yapılan çalışmalarda prostat kanserini baskıladığı bunun yanında aşırı ifadenmesi ile tümör yükünü, lokal invazyonu ve uzak beyin metastazını büyük ölçüde artırdığı raporlanmıştır [103, 104]. Bunun yanında yapılan diğer bir çalışmada ise miR423-5p'in *STAT3* geninin ifadenmesini etkileyebileceği rapor edilmiştir [72].

Mir ve arkadaşları 2018 yılında miRNA423 ve rs6505162 numaralı SNP'nin meme kanseri üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda miRNA-423 TT genotipine ve T alleleline sahip kişilerde ileri evre meme kanseri ve metastaz görüldüğü raporlanmıştır [105]. miR-31'in ifadenmesinin baskılandığı gastrik kanser hücrelerinde p-STAT3'ün arttığı gösterilmiştir. Bu bulgular miR-31'in, gastrik kanser hücrelerinin çoğalmasını ve göçünü baskılamak ve apoptozu teşvik etmek için *STAT3*'ün ifadenmesini düzenlediğini göstermektedir [106].

miRNA'ların genlerin ifadenmesinin kontrolünde rol oynadıkları artık bilinmektedir. Ancak gen içinde ve 5' UTR'da yer alan rs4796793, rs744166 ve

rs3816769 numaralı SNP'ler için yapılan *in silico* analizler sonucunda bu bölgelere seçici olarak bağlanan miRNA saptanmamıştır.

### **5.1. STAT3 (c.1671C>T) rs1053004 Polimorfizmine Ait Bulgular**

Zhu ve arkadaşları 2016 yılında rs1053004 ve rs1053005 SNP'lerinin pankreas kanseri ile ilişkisini araştırmışlar. Çalışmada Çin popülasyonunda 774 pankreas kanseri vaka ve 777 kontrol kullanılmıştır. Sonucu doğrulamak için 940 vaka ve 1398 kontrol içeren ikinci bir grup oluşturulmuştur. Çalışma sonucunda rs1053004 C> T polimorfizminin pankreas kanseri riskinin azalması ile anlamlı derecede ilişkili olduğu bulunmuştur. İkinci grupta yapılan çalışmada sonucun doğruluğu teyit edilmiştir. rs1053004 CC genotipini taşıyan bireylerde, TT genotipini taşıyan bireylere kıyasla pankreas kanseri riskinin daha düşük olduğu rapor edilmiştir. rs1053004 numaralı SNP'nin STAT3 ifadenmesindeki etkisine baktıklarında ise rs1053004 SNP'ye sahip kişilerde pankreas dokusunda STAT3 ekspresyonunun rs1053004 numaralı SNP'ye sahip olmayanlara oranla daha yüksek oranda olduğu saptanmıştır [74].

İran popülasyonunda yapılan çalışmada rs1053004 GG genotipine sahip kişilerde kardiyopulmoner bypass sonrası oluşan akut böbrek hasarının görülme oranında azalma olduğu bildirilmiştir. rs1053004 AG genotipinin ise kardiyopulmoner bypass sonrası oluşan akut böbrek hasarının görülme oranını arttırdığı gözlenmiştir [72]. Bu çalışmada rs1053004 numaralı SNP'nin STAT3 ifadenmesinde etkili olabileceğini rapor eden sonuçların bulunması nedeni ile rs1053004 numaralı SNP çalışmamıza dahil edilmiştir.

Roodi ve Hashemi'nin 2018 yılında yaptıkları meta analiz çalışmasında ise rs1053004 numaralı SNP ile insanda kanser gelişimi arasındaki ilişki araştırılmıştır. Çalışmada 4,605 kanser vakası ve 5,248 kontrol kullanılmıştır. Çalışma grubundaki bireyler Asya kökenlidir. Çalışmanın sonucunda rs1053004 numaralı SNP'nin kansere neden olduğunu kanıtlayan bir bulgu bulunamamıştır [107].

Bizim yapmış olduğumuz çalışmada ise rs1053004 numaralı SNP'de bulunan genotiplerin dağılımına bakarsak gerek genel hasta grubu gerekse hasta alt gruplarında genotip dağılımları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır.



## 5.2. STAT3 (c.-1915C>G) rs4796793 Polimorfizmine Ait Bulgular

Genin 5' UTR kısmında var olan c.-1915C>G (rs4796793) polimorfizminin *STAT3* ifadenmesini ve *STAT3* geninden üretilen transkriptin stabilitesini etkileyebileceği belirtilmektedir [77].

Zhao ve arkadaşları 2015 yılında yaptıkları çalışmada *STAT3* geninde bulunan rs4796793 ve *STAT5b* geninde bulunan rs6503691 SNP'lerinin meme kanseri üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda rs4796793'ün GG genotipinin meme kanseri riskinin azalması ile ilişkili olduğunu ve *STAT3* rs4796793'te CG + GG genotipini taşıyan bireylerin daha az sıklıkla meme kanseri olduğu rapor edilmiştir [108].

Gong ve arkadaşları 2018 yılında yaptıkları çalışma ile *STAT3* geninde bulunan rs4796793 numaralı SNP'nin akciğer kanseri üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Çalışmada 498 hasta 213 kontrol kullanılmıştır. *STAT3*'te bulunan rs4796793 numaralı SNP'nin akciğer kanseri prevalansı ile anlamlı derecede ilişkili olduğunu saptamışlardır. *STAT3* rs4769793 G alel taşıyıcılarında *STAT3* geninin ifadenmesinde ve akciğer kanseri görülme sıklığında artış eğilimi olduğu gösterilmiştir [109].

Bizim yapmış olduğumuz çalışmada ise rs4796793 numaralı SNP açısından gerek genel hasta grubu gerekse hasta alt gruplarında genotip dağılımları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır.

## 5.3. STAT3 (c.-1-13666T>C) rs744166 Polimorfizmine Ait Bulgular

Ekzon 1 ve ekzon 2 arasında intronik bölge yer alan c.-1-13666T>C (rs744166) polimorfizminin *STAT3* ifadenmesinde ve transkriptin kırılmasında etkili olabileceği belirtilmektedir [75, 76].

Yuan ve arkadaşları Çin popülasyonunda gastrik kanser ve *STAT3*'de bulunan rs744166 numaralı polimorfizmin ilişkisini araştırmışlardır. Çalışmada 209 hasta, 294 kontrol grubu kullanılmıştır. TC ve CC genotipine sahip kişilerde TT genotipine sahip kişilere oranla daha az gastrik kanser görüldüğü saptanmıştır [76].

İran popülasyonunda kardiyopulmoner bypass sonrası oluşan akut böbrek hasarı ile ilgili çalışmada rs1053004 polimorfizminin yanında rs744166 polimorfizmi de araştırılmıştır. rs744166 polimorfizminde yer alan genotip sıklığına bakıldığında

akut böbrek hasarı olan ve olmayan gruplar arasında bir fark bulunamamıştır [72]. SNP'lerdeki genotip sıklıkları etnik kökenlere göre değişiklik gösterebilir. rs744166 numaralı SNP'yi araştırmamızın nedeni farklı etnik kökeninde bu SNP'nin STAT3 geninin ifadenmesinde anlamlı sonuç verebilme potansiyelidir. Ancak çalışma grubumuzda hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı.

#### **5.4. STAT3 (c.273+314A>G/T) rs3816769 Polimorfizmine Ait Bulgular**

Domańska ve arkadaşlarının 2013 yılında yaptıkları çalışmada *STAT3*'te bulunan rs3816769 ve rs744166 SNP'lerinin küçük hücreli olmayan akciğer kanseri ile ilişkisi araştırılmıştır. Çalışma grubunda 71 hasta 104 kontrol bulunmaktadır. rs3816769 TT genotipine sahip kişilerde *STAT3* geninin ifadenmesinin artırdığını raporlamışlardır. Öte yandan CC genotipine sahip kişilerde ise *STAT3* ifadenmesinin azaldığı raporlanmıştır. Bu da rs3816769 numaralı SNP ile *STAT3*'ün ifadenmesi arasında bir ilişki olabileceğini göstermektedir [78].

Bizim yapmış olduğumuz çalışmanın sonuçlarına bakacak olursak hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Hasta alt gruplarının kendi aralarındaki genotip sıklıkları birbirine yakın olduğu için hasta alt gruplarında da herhangi bir anlamlı sonuç bulunmamıştır.

Bunların yanında yapılan istatistiksel analizler cinsiyet ve hasta alt grupları arasında anlamlı bir ilişki bulunabileceğini göstermektedir ( $p < 0,001$ ). Kadınların %25'inde hidronefroz, %65,9'unda veziköüreteral reflü olduğu görülmektedir. Diğer taraftan tanı yaşı ile genotip sıklıkları arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Yapmış olduğumuz çalışma bildiğimiz kadarıyla alanında yapılan ilk çalışmadır. Bildiğimiz kadarıyla *STAT3* geni üzerinde bulunan rs1053004, rs4796793, rs744166, rs3816769 SNP'ler ile konjenital böbrek ve üriner kanal anomalisi (CAKUT) arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışma bulunmamaktadır.

Konjenital böbrek ve üriner kanal anomalisi (CAKUT) ile ilişkilendirilebilecek olası aday genlerdeki mutasyon ve polimorfizmlerin belirlenip, fonksiyonel etkilerinin tanımlanması hastalığın patogenezinin aydınlatılmasına ve tanısının daha hızlı ve doğru şekilde konulmasına katkı sağlayacaktır.

CAKUT ile ilgili yapılan çalışmalara baktığımızda 36 gen ilişkili bulunmuş olup, bu 36 genin de toplam hastaların yaklaşık %20'si ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu sonuç bize CAKUT'un gelişmesinde etkili olan henüz bilinmeyen genlerin ve mekanizmaların etkili olduğunu göstermektedir. Bütün bu göstergeler ele alındığında büyük hasta gruplarında yapılacak tüm ekzom analizlerinin CAKUT'un altında yatan biyolojik mekanizmayı anlamamıza sağlayacak değerli bilgileri vereceğine inanmaktayız.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. *STAT3* geninde bulunan c.-1915C>G, c.1671C>T, c.-1-13666T>C, c.273+314A>G/T tek nükleotit polimorfizmleri ile konjenital böbrek ve üriner kanal anomalisi (CAKUT) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki belirlenmemiştir.
2. Genel hasta grubu ve kontrol grubu arasında hastalık görülme sıklığının cinsiyete göre dağılımına baktığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamamıştır. Bununla birlikte hasta alt grupları arasında hastalık görülme sıklığının cinsiyete göre dağılımına baktığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ( $p<0,001$ ). Kadınların %25'inde hidronefroz, %65,9'unda veziköüretal reflü olduğu görülmektedir.
3. Belirli SNP'ler yerine tüm *STAT3* geninin analiz edilmesinin CAKUT ile *STAT3* geninin ilişkisinin araştırılmasında daha faydalı olacaktır.
4. CAKUT hasta grubu pek çok böbrek malformasyonunu içeren hasta alt gruplarına sahiptir. Belirli bir hasta alt grubunun seçilmesi ve yeterli örneklem büyüklüğüne ulaşılması durumunda daha anlamlı sonuçların elde edilebilmesi mümkündür.
5. Çalışmamızda hasta alt gruplarında hastalık görülme oranlarının kadınlarda erkeklere göre daha sık görüldüğü saptanmıştır. Cinsiyet farkından dolayı hastalığın görülme sıklığı değiştiği için hormonal seviyeler dikkate alınarak ilgili genlerin çalışılabileceğini düşünmekteyiz.
6. Tek nükleotid değişiklikleri (SNP'ler) genotip dağılımı açısından etnik kökenler arasında farklılık göstermektedir. Bir etnik kökende hastalığa sebep olmayan genotip diğer toplumlarda hastalık ile ilişkili olabilir. Hastalığa sebep olan veya olabilecek genetik faktörlerin yanında çevresel etkenler de hastalıklara sebep olmaktadır. Bu durumlar göz önüne alındığında çalışmada elde edilen verilerin daha büyük bir örneklem grubu ile etnik köken ve çevresel faktörler göz önünde bulundurularak incelenmesini önermekteyiz.

## 7. KAYNAKLAR

1. Chesnaye, N., Bonthuis, M., Schaefer, F., et al. Demographics of paediatric renal replacement therapy in Europe: a report of the ESPN/ERA-EDTA registry. *Pediatr Nephrol* 29, 2403-10, 2014
2. Sanna-Cherchi, S., Caridi, G., Weng, P.L., et al. Genetic approaches to human renal agenesis/hypoplasia and dysplasia. *Pediatr Nephrol* 22, 1675-84, 2007
3. Schedl, A. Renal abnormalities and their developmental origin. *Nat Rev Genet* 8, 791-802, 2007
4. Kosfeld, A., Brand, F., Weiss, A.C., et al. Mutations in the leukemia inhibitory factor receptor (LIFR) gene and *Lifr* deficiency cause urinary tract malformations. *Hum Mol Genet* 26, 1716-1731, 2017
5. Vivante, A. and Hildebrandt, F. Exploring the genetic basis of early-onset chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol* 12, 133-46, 2016
6. Brodbeck, S. and Englert, C. Genetic determination of nephrogenesis: the Pax/Eya/Six gene network. *Pediatr Nephrol* 19, 249-55, 2004
7. Basson, M.A., Akbulut, S., Watson-Johnson, J., et al. *Sproutyl* is a critical regulator of GDNF/RET-mediated kidney induction. *Dev Cell* 8, 229-39, 2005
8. Chi, L., Saarela, U., Railo, A., et al. A secreted BMP antagonist, *Cer1*, fine tunes the spatial organization of the ureteric bud tree during mouse kidney development. *PLoS One* 6, e27676, 2011
9. Costantini, F. GDNF/Ret signaling and renal branching morphogenesis: From mesenchymal signals to epithelial cell behaviors. *Organogenesis* 6, 252-62, 2010
10. Costantini, F. Renal branching morphogenesis: concepts, questions, and recent advances. *Differentiation* 74, 402-21, 2006
11. Davidson, A.J., *Mouse kidney development*, in *StemBook*. 2008: Cambridge (MA).
12. Ihermann-Hella, A., Lume, M., Miinalainen, I.J., et al. Mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway regulates branching by remodeling epithelial cell adhesion. *PLoS Genet* 10, e1004193, 2014
13. Lu, B.C., Cebrian, C., Chi, X., et al. *Etv4* and *Etv5* are required downstream of GDNF and Ret for kidney branching morphogenesis. *Nat Genet* 41, 1295-302, 2009
14. Okazawa, M., Murashima, A., Harada, M., et al. Region-specific regulation of cell proliferation by FGF receptor signaling during the Wolffian duct development. *Dev Biol* 400, 139-47, 2015
15. Shiraishi, K., Yoshino, K., Watanabe, M., et al. Risk factors for breakthrough infection in children with primary vesicoureteral reflux. *J Urol* 183, 1527-31, 2010
16. Sweeney, D., Lindstrom, N., and Davies, J.A. Developmental plasticity and regenerative capacity in the renal ureteric bud/collecting duct system. *Development* 135, 2505-10, 2008
17. Collum, R.G., Brutsaert, S., Lee, G., et al. A Stat3-interacting protein (*StIP1*) regulates cytokine signal transduction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97, 10120-5, 2000
18. Boehm, U., Klamp, T., Groot, M., et al. Cellular responses to interferon-gamma. *Annu Rev Immunol* 15, 749-95, 1997
19. Hillmer, E.J., Zhang, H., Li, H.S., et al. STAT3 signaling in immunity. *Cytokine Growth Factor Rev* 31, 1-15, 2016
20. Takakura, A., Nelson, E.A., Haque, N., et al. Pyrimethamine inhibits adult polycystic kidney disease by modulating STAT signaling pathways. *Hum Mol Genet* 20, 4143-54, 2011

21. Talbot, J.J., Shillingford, J.M., Vasanth, S., et al. Polycystin-1 regulates STAT activity by a dual mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108, 7985-90, 2011
22. Amerman, E.C., in *Human Anatomy & Physiology, Global Edition*. 2016, Pearson. p. 981-1019.
23. Marieb, E.N. and Keller, S.M., in *Essentials of Human Anatomy & Physiology, Global Edition*. 2018, Pearson. p. 537-548.
24. Saladin, K.S. and McFarland, R.K., in *Essentials of Anatomy & Physiology*. 2017, Mc Graw Hill Education. p. 525-546.
25. Tisher, C.C. and Brenner, B.M., in *Renal Pathology: With Clinical and Functional Correlations*. 1993, LWW. p. 1312-1354.
26. Risdon, R. Development, Developmental defects and cystic diseases of the kidney. *Heptinstall's Pathology of the Kidney 4th edition*. Little, Brown & Co, Boston, 93-101, 1992
27. Bailey and Love's Short Practice of Surgery.(CRC Press),2008
28. Cooper, C.S. Diagnosis and management of vesicoureteral reflux in children. *Nat Rev Urol* 6, 481-9, 2009
29. Yoon, P.W., Oiney, R.S., Khoury, M.J., et al. Contribution of birth defects and genetic diseases to pediatric hospitalizations. A population based study. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 151, 1096-1103, 1997
30. Hildebrandt, F. Genetic kidney diseases. *The Lancet* 375, 1287-1295, 2010
31. Winyard, P. and Chitty, L.S. Dysplastic kidneys. *Semin Fetal Neonatal Med* 13, 142-51, 2008
32. Nicolaou, N., Renkema, K.Y., Bongers, E.M., et al. Genetic, environmental, and epigenetic factors involved in CAKUT. *Nat Rev Nephrol* 11, 720-31, 2015
33. Vivante, A., Kohl, S., Hwang, D.Y., et al. Single-gene causes of congenital anomalies of the kidney and urinary tract (CAKUT) in humans. *Pediatr Nephrol* 29, 695-704, 2014
34. Parikh, C.R., McCall, D., Engelman, C., et al. Congenital renal agenesis: case-control analysis of birth characteristics. *Am J Kidney Dis* 39, 689-94, 2002
35. Schmidt-Ott, K.M., Yang, J., Chen, X., et al. Novel regulators of kidney development from the tips of the ureteric bud. *J Am Soc Nephrol* 16, 1993-2002, 2005
36. Saxen, L. and Sariola, H. Early organogenesis of the kidney. *Pediatr Nephrol* 1, 385-92, 1987
37. Obara-Ishihara, T., Kuhlman, J., Niswander, L., et al. The surface ectoderm is essential for nephric duct formation in intermediate mesoderm. *Development* 126, 1103-8, 1999
38. Uetani, N. and Bouchard, M. Plumbing in the embryo: developmental defects of the urinary tracts. *Clinical Genetics* 75, 307-317, 2009
39. Phua, Y.L. and Ho, J. Renal dysplasia in the neonate. *Curr Opin Pediatr* 28, 209-15, 2016
40. Carroll, T.J., Park, J.S., Hayashi, S., et al. Wnt9b plays a central role in the regulation of mesenchymal to epithelial transitions underlying organogenesis of the mammalian urogenital system. *Dev Cell* 9, 283-92, 2005
41. Lin, Y., Liu, A., Zhang, S., et al. Induction of ureter branching as a response to Wnt-2b signaling during early kidney organogenesis. *Dev Dyn* 222, 26-39, 2001
42. Stark, K., Vainio, S., Vassileva, G., et al. Epithelial transformation of metanephric mesenchyme in the developing kidney regulated by Wnt-4. *Nature* 372, 679-83, 1994
43. Yu, J., Carroll, T.J., and McMahon, A.P. Sonic hedgehog regulates proliferation and differentiation of mesenchymal cells in the mouse metanephric kidney. *Development* 129, 5301-12, 2002
44. Barasch, J., Yang, J., Ware, C.B., et al. Mesenchymal to epithelial conversion in rat metanephros is induced by LIF. *Cell* 99, 377-86, 1999

45. Bienaime, F., Muorah, M., Yammine, L., et al. Stat3 Controls Tubulointerstitial Communication during CKD. *J Am Soc Nephrol* 27, 3690-3705, 2016
46. Krause, M., Rak-Raszewska, A., Pietila, I., et al. Signaling during Kidney Development. *Cells* 4, 112-32, 2015
47. Rose-John, S. IL-6 trans-signaling via the soluble IL-6 receptor: importance for the pro-inflammatory activities of IL-6. *Int J Biol Sci* 8, 1237-47, 2012
48. Nechemia-Arbely, Y., Barkan, D., Pizov, G., et al. IL-6/IL-6R axis plays a critical role in acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol* 19, 1106-15, 2008
49. Wang, J., Ouyang, C., Chen, X., et al. STAT3 inhibits apoptosis of human renal tubular epithelial cells induced by ATP depletion/recovery. *Nephron Exp Nephrol* 108, e11-8, 2008
50. Kuratsune, M., Masaki, T., Hirai, T., et al. Signal transducer and activator of transcription 3 involvement in the development of renal interstitial fibrosis after unilateral ureteral obstruction. *Nephrology (Carlton)* 12, 565-71, 2007
51. Pang, M., Ma, L., Gong, R., et al. A novel STAT3 inhibitor, S3I-201, attenuates renal interstitial fibroblast activation and interstitial fibrosis in obstructive nephropathy. *Kidney Int* 78, 257-68, 2010
52. Li, R., Yang, N., Zhang, L., et al. Inhibition of Jak/STAT signaling ameliorates mice experimental nephrotic syndrome. *Am J Nephrol* 27, 580-9, 2007
53. He, J.C., Husain, M., Sunamoto, M., et al. Nef stimulates proliferation of glomerular podocytes through activation of Src-dependent Stat3 and MAPK1,2 pathways. *J Clin Invest* 114, 643-51, 2004
54. Choi, J.Y., Li, W.L., Kouri, R.E., et al. Assignment of the acute phase response factor (APRF) gene to 17q21 by microdissection clone sequencing and fluorescence in situ hybridization of a P1 clone. *Genomics* 37, 264-265, 1996
55. Miyoshi, K., Cui, Y., Riedlinger, G., et al. Structure of the mouse Stat 3/5 locus: evolution from *Drosophila* to zebrafish to mouse. *Genomics* 71, 150-5, 2001
56. <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/STAT3#location>.
57. Milner, J.D., Vogel, T.P., Forbes, L., et al. Early-onset lymphoproliferation and autoimmunity caused by germline STAT3 gain-of-function mutations. *Blood* 125, 591-9, 2015
58. Takeda, K., Noguchi, K., Shi, W., et al. Targeted disruption of the mouse Stat3 gene leads to early embryonic lethality. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94, 3801-4, 1997
59. Bowman, T., Garcia, R., Turkson, J., et al. STATs in oncogenesis. *Oncogene* 19, 2474-88, 2000
60. Jatiani, S.S., Baker, S.J., Silverman, L.R., et al. Jak/STAT pathways in cytokine signaling and myeloproliferative disorders: approaches for targeted therapies. *Genes Cancer* 1, 979-93, 2010
61. Schindler, C. and Plumlee, C. Interferons use the JAK-STAT pathway. *Semin Cell Dev Biol* 19, 311-8, 2008
62. Huang, G., Yan, H., Ye, S., et al. STAT3 phosphorylation at tyrosine 705 and serine 727 differentially regulates mouse ESC fates. *Stem Cells* 32, 1149-60, 2014
63. Plaza-Menacho, I., van der Sluis, T., Hollema, H., et al. Ras/ERK1/2-mediated STAT3 Ser727 phosphorylation by familial medullary thyroid carcinoma-associated RET mutants induces full activation of STAT3 and is required for c-fos promoter activation, cell mitogenicity, and transformation. *J Biol Chem* 282, 6415-24, 2007
64. Schuringa, J.J., Wojtachnio, K., Hagens, W., et al. MEN2A-RET-induced cellular transformation by activation of STAT3. *Oncogene* 20, 5350-8, 2001
65. Hwang, J.H., Kim, D.W., Suh, J.M., et al. Activation of signal transducer and activator of transcription 3 by oncogenic RET/PTC (rearranged in transformation/papillary thyroid carcinoma) tyrosine kinase: roles in specific gene regulation and cellular transformation. *Mol Endocrinol* 17, 1155-66, 2003

66. Plaza Menacho, I., Koster, R., van der Sloot, A.M., et al. RET-familial medullary thyroid carcinoma mutants Y791F and S891A activate a Src/JAK/STAT3 pathway, independent of glial cell line-derived neurotrophic factor. *Cancer Res* 65, 1729-37, 2005
67. Zhou, L. and Too, H.P. GDNF family ligand dependent STAT3 activation is mediated by specific alternatively spliced isoforms of GFRalpha2 and RET. *Biochim Biophys Acta* 1833, 2789-2802, 2013
68. Armanious, H., Gelebart, P., Mackey, J., et al. STAT3 upregulates the protein expression and transcriptional activity of beta-catenin in breast cancer. *Int J Clin Exp Pathol* 3, 654-64, 2010
69. Kawada, M., Seno, H., Uenoyama, Y., et al. Signal transducers and activators of transcription 3 activation is involved in nuclear accumulation of beta-catenin in colorectal cancer. *Cancer Res* 66, 2913-7, 2006
70. Hao, J., Li, T.G., Qi, X., et al. WNT/beta-catenin pathway up-regulates Stat3 and converges on LIF to prevent differentiation of mouse embryonic stem cells. *Dev Biol* 290, 81-91, 2006
71. Li, M., Li, F., Li, N., et al. Association of polymorphism rs1053005 in STAT3 with chronic hepatitis B virus infection in Han Chinese population. *BMC Med Genet* 19, 52, 2018
72. Aghakhani Chegeni, S., Rahimzadeh, M., Montazerghaem, H., et al. Preliminary Report on the Association Between STAT3 Polymorphisms and Susceptibility to Acute Kidney Injury After Cardiopulmonary Bypass. *Biochem Genet* 56, 627-638, 2018
73. Zhou, F., Cheng, L., Qiu, L.X., et al. Associations of potentially functional variants in IL-6, JAKs and STAT3 with gastric cancer risk in an eastern Chinese population. *Oncotarget* 7, 28112-23, 2016
74. Zhu, B., Zhu, Y., Lou, J., et al. A single nucleotide polymorphism in the 3'-UTR of STAT3 regulates its expression and reduces risk of pancreatic cancer in a Chinese population. *Oncotarget* 7, 62305-62311, 2016
75. Willson, T.A., Kuhn, B.R., Jurickova, I., et al. STAT3 genotypic variation and cellular STAT3 activation and colon leukocyte recruitment in pediatric Crohn disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 55, 32-43, 2012
76. Yuan, K., Liu, H., Huang, L., et al. rs744166 polymorphism of the STAT3 gene is associated with risk of gastric cancer in a Chinese population. *Biomed Res Int* 2014, 527918, 2014
77. Ito, N., Eto, M., Nakamura, E., et al. STAT3 polymorphism predicts interferon-alfa response in patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 25, 2785-91, 2007
78. Domanska, D., Antczak, A., Pastuszek-Lewandoska, D., et al. STAT3 rs3816769 polymorphism correlates with gene expression level and may predispose to nonsmall cell lung cancer: a preliminary study. *Pol Arch Med Wewn* 123, 672-9, 2013
79. Saiki, R., Gyllenstein, U., and Erlich, H. The polymerase chain reaction. IRL Press, Oxford, Washington DC 1. edition, 144, 1988
80. Saiki, R.K., Gelfand, D.H., and Stoffel, S. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239, 487-491, 1988
81. Alberts, B., Johnson, A.D., Lewis, J., et al. *Molecular Biology of the Cell*. (W. W. Norton & Company), 2014
82. S.J Williams, N.K.H. The impact of the human genome project on medical genetics. *Trends in Molecular Medicine* 7(5), 187-231, 2001
83. Garibyan, L. and Avashia, N. Polymerase Chain Reaction. *Journal of Investigative Dermatology* 133, 1-4, 2013
84. Schochetman, G., Ou, C.-Y., and Jones, W. Perspective: Polymerase chain reaction. *J Infect Dis* 158, 1154-1157, 1988



85. Lynch, J. and Brown, J. The polymerase chain reaction: Current and future clinical application. *J Med Genet* 27, 2-7, 1990
86. Zhang, R., Zhu, Z., Zhu, H., et al. SNP Cutter: a comprehensive tool for SNP PCR-RFLP assay design. *Nucleic Acids Res* 33, W489-92, 2005
87. Smith, D.R. Restriction endonuclease digestion of DNA. *Methods Mol Biol* 18, 427-31, 1993
88. Bloch, K.D. and Grossmann, B. Digestion of DNA with restriction endonucleases. *Curr Protoc Mol Biol* Chapter 3, Unit3 1, 2001
89. Roberts, R.J., Belfort, M., Bestor, T., et al. A nomenclature for restriction enzymes, DNA methyltransferases, homing endonucleases and their genes. *Nucleic Acids Res* 31, 1805-12, 2003
90. Loenen, W.A., Dryden, D.T., Raleigh, E.A., et al. Type I restriction enzymes and their relatives. *Nucleic Acids Res* 42, 20-44, 2014
91. Orłowski, J. and Bujnicki, J.M. Structural and evolutionary classification of Type II restriction enzymes based on theoretical and experimental analyses. *Nucleic Acids Res* 36, 3552-69, 2008
92. Sears, A., Peakman, L.J., Wilson, G.G., et al. Characterization of the Type III restriction endonuclease PstII from *Providencia stuartii*. *Nucleic Acids Res* 33, 4775-87, 2005
93. Matsuda, K. PCR-Based Detection Methods for Single-Nucleotide Polymorphism or Mutation: Real-Time PCR and Its Substantial Contribution Toward Technological Refinement. *Adv Clin Chem* 80, 45-72, 2017
94. Ririe, K.M., Rasmussen, R.P., and Wittwer, C.T. Product differentiation by analysis of DNA melting curves during the polymerase chain reaction. *Anal Biochem* 245, 154-60, 1997
95. Montgomery, J., Wittwer, C.T., Palais, R., et al. Simultaneous mutation scanning and genotyping by high-resolution DNA melting analysis. *Nat Protoc* 2, 59-66, 2007
96. Cheli, S., Pietrantonio, F., Clementi, E., et al. LightSNiP assay is a good strategy for pharmacogenetics test. *Front Pharmacol* 6, 114, 2015
97. [www.dr-petrek.eu/documents/HWE.xls](http://www.dr-petrek.eu/documents/HWE.xls).
98. Harambat, J., van Stralen, K.J., Kim, J.J., et al. Epidemiology of chronic kidney disease in children. *Pediatr Nephrol* 27, 363-73, 2012
99. Rather, L.J. The genesis of cancer: A Study in the History of Ideas.(Baltimore: Johns Hopkins University Press),1978
100. Gubler, M.C. and Antignac, C. Renin-angiotensin system in kidney development: renal tubular dysgenesis. *Kidney Int* 77, 400-6, 2010
101. <http://vm24141.virt.gwdg.de/services/microsniper/>.
102. <http://mirdb.org/expression.html>.
103. Lin, H., Lin, T., Lin, J., et al. Inhibition of miR-423-5p suppressed prostate cancer through targeting GRIM-19. *Gene* 688, 93-97, 2019
104. Sun, G., Ding, X., Bi, N., et al. MiR-423-5p in brain metastasis: potential role in diagnostics and molecular biology. *Cell Death Dis* 9, 936, 2018
105. Mir, R., Al Balawi, I.A., and Duhier, F.M.A. Involvement of microRNA-423 Gene Variability in Breast Cancer Progression in Saudi Arabia. *Asian Pac J Cancer Prev* 19, 2581-2589, 2018
106. Yu, T., Ma, P., Wu, D., et al. Functions and mechanisms of microRNA-31 in human cancers. *Biomed Pharmacother* 108, 1162-1169, 2018
107. Moazeni-Roodi, A. and Hashemi, M. Association between STAT3 rs1053004 polymorphism and cancer risk: a meta-analysis. *Mol Biol Res Commun* 7, 119-124, 2018
108. Zhao, L., Zhang, Q., Luan, X., et al. STAT3 and STAT5b polymorphism contributes to breast cancer risk and clinical outcomes. *Int J Clin Exp Pathol* 8, 2033-8, 2015

109. Gong, W.J., Ma, L.Y., Hu, L., et al. STAT3 rs4796793 contributes to lung cancer risk and clinical outcomes of platinum-based chemotherapy. *Int J Clin Oncol* 24, 476-484, 2019

## 8. EKLER

### Ek A: Hastaların Cinsiyet, Yaş, Endikasyon Bilgileri

Hasta No	Cinsiyet	Tanı Yaşı (Yıl)	Endikasyon
1	K	2	Kronik Böbrek Yetmezliği
2	E	0,083	Kistik Böbrek Hastalığı
3	K	2	Vezikoüreteral reflü
4	K	0,25	Üriner Sistem Enfeksiyonu
5	E	16	Vezikoüreteral reflü
6	E	5	Hidronefroz
7	E	0,166	Hidronefroz
8	E	14	Kronik Böbrek Yetmezliği
9	K	1	Üriner Sistem Enfeksiyonu
10	E	1	Hidronefroz
11	K	2	Renal Displazi
12	E	0,5	Hidronefroz
13	E	4	Kronik Böbrek Yetmezliği
14	E	0,333	Polikistik Böbrek
15	E	11	Küçük Böbrek Tek Taraflı
16	K	2	Vezikoüreteral reflü
17	E	16	Kronik Böbrek Yetmezliği
18	E	5	Bilateral UV darlık,Hidronefroz, Kronik Böbrek Yetmezliği
19	E	11	Son Dönem Böbrek Hastalığı
20	E	8	Kronik Böbrek Yetmezliği
21	E	0,083	Hidronefroz
22	E	1	Hidronefroz
23	K	4	Vezikoüreteral reflü, Üriner Sistem Enfeksiyonu
24	K	10	Kontrakte Böbrek
25	E	0,083	Hidronefroz
26	K	8	Vezikoüreteral reflü
27	K	0,25	Vezikoüreteral reflü
28	K	9	Kronik Böbrek Yetmezliği
29	K	5	Vezikoüreteral reflü
30	E	0,083	Hidronefroz

31	K	0,75	Vezikoüretal reflü
32	E	0,333	Hidronefroz
33	E	0,416	Hidronefroz
34	K	8	Vezikoüretal reflü
35	E	3	Soliter böbrek, Üriner Sistem Enfeksiyonu
36	E	0,083	Üriner Sistem Enfeksiyonu
37	E	0,166	Hidronefroz
38	K	9	Düzelmiş VUR, Üriner Sistem Enfeksiyonu
39	K	17	Kronik Böbrek Yetmezliği
40	K	2	Vezikoüretal reflü
41	K	0,25	Hidronefroz
42	K	0,083	Hidronefroz
43	E	1	Hidronefroz, PUV
44	E	6	Kronik Böbrek Yetmezliği
45	E	0,166	Üriner Sistem Enfeksiyonu
46	K	2	Vezikoüretal reflü
47	K	3	Vezikoüretal reflü
48	K	8	Tekrarlayan İdrar Yolu Enfeksiyonu
49	K	0,166	Üriner Sistem Enfeksiyonu, Hidronefroz
50	K	3	Tekrarlayan İdrar Yolu Enfeksiyonu, Bilateral Vezikoüretal reflü
51	E	0,166	Son Dönem Böbrek Hastalığı
52	E	15	Vezikoüretal reflü, Kronik Böbrek Yetmezliği
53	K	6	Vezikoüretal reflü, Kronik Böbrek Yetmezliği, Böbrek Nakli
54	K	9	Vezikoüretal reflü, Böbrek Nakli
55	E	0,166	Vezikoüretal reflü
56	E	0,25	Kronik Böbrek Yetmezliği, Böbrek Nakli
57	E	4	Renal Agenezi, unilateral
58	E	4	Kronik Böbrek Yetmezliği
59	E	18	Tekrarlayan İdrar Yolu Enfeksiyonu
60	E	2	Tekrarlayan İdrar Yolu Enfeksiyonu
61	E	0,083	Vezikoüretal reflü
62	E	18	Vezikoüretal reflü, Kronik Böbrek Yetmezliği, Böbrek Nakli
63	E	3	Hidronefroz

64	K	14	Kronik Böbrek Yetmezliği, Vezikoüreteral reflü
65	K	9	Üriner Sistem Enfeksiyonu, Hidronefroz
66	E	3	Vezikoüreteral reflü,Kronik Böbrek Yetmezliği, Böbrek Nakli
67	K	1	Üriner Sistem Enfeksiyonu
68	E	9	Kronik Böbrek Yetmezliği, İdrar Yolu Enfeksiyonu
69	E	0,416	Hidronefroz
70	E	0,083	Konjenital Hidronefroz, Üriner Sistem Enfeksiyonu
71	E	1	Vezikoüreteral reflü, Üriner Sistem Enfeksiyonu
72	K	9	Üriner Sistem Enfeksiyonu
73	K	8	Üriner Sistem Enfeksiyonu
74	K	1	Üriner Sistem Enfeksiyonu
75	K	4	Hidronefroz
76	K	0,666	Üriner Sistem Enfeksiyonu
77	E	8	Böbrek Taşı, Hidronefroz
78	K	3	Hemolitik Üremik Sendrom
79	E	8	Üriner Sistem Enfeksiyonu
80	E	16	Kronik Böbrek Yetmezliği
81	E	2	Böbrek Taşı
82	E	8	Böbrek Taşı, Tekrarlayan Hemotüri, Flask Nöropatik Mesane
83	E	10	Polikistik Böbrek, Kronik Böbrek Yetmezliği
84	K	7	Kronik Böbrek Yetmezliği, Böbrek Nakli, İdrar Yolu Enfeksiyonu
85	K	6	Üriner Sistem Enfeksiyonu
86	E	11	Renal Agenezi, Kronik Böbrek Yetmezliği
87	E	0,416	Hidronefroz
88	E	0,083	Hidronefroz, Vezikoüreteral reflü
89	K	0,166	Hidronefroz, Vezikoüreteral reflü
90	K	0,416	Hidronefroz, Vezikoüreteral reflü
91	K	7	Hematüri, Üriner Sistem Enfeksiyonu
92	E	1	Vezikoüreteral reflü
93	K	0,333	Vezikoüreteral reflü
94	K	2	Üriner Sistem Enfeksiyonu

95	E	0,083	Hidronefroz, Vezikoüreteral reflü
96	E	13	Hidronefroz
97	E	7	Son Dönem Böbrek Hastalığı
98	E	0,083	Vezikoüreteral reflü
99	K	0,083	Üriner Sistem Enfeksiyonu
100	K	7	Üriner Sistem Enfeksiyonu, İzole Proteinüri
101	E	16	Böbrek Fonksiyonlarının Anormal Çalışmaları
102	K	1	Kronik Böbrek Yetmezliği
103	E	4	Konjenital Hidronefroz, Vezikoüreteral reflü
104	E	0,916	Hidronefroz, Üriner Sistem Enfeksiyonu, Böbrek Taşı
105	E	10	Kronik Böbrek Yetmezliği, Hidronefroz, Renal Agenezi
106	K	0,083	Hidronefroz, Kronik Böbrek Yetmezliği, İdrar Yolu Enfeksiyonu
107	K	0,083	İdrar Yolu Enfeksiyonu, Hidronefroz, Hipotiroidizm
108	E	0,166	Vezikoüreteral reflü, İdrar Yolu Enfeksiyonu
109	K	0,583	Hidronefroz
110	E	1	Hidronefroz
111	K	2	Vezikoüreteral reflü, Üropati ile
112	E	2	Üriner Sistem Enfeksiyonu
113	K	10	Üriner Sistem Enfeksiyonu
114	K	5	Kronik Böbrek Yetmezliği, Vezikoüreteral reflü
115	E	0,083	Hemattüri, Üriner Sistem Enfeksiyonu
116	K	1	Üriner Sistem Enfeksiyonu
117	K	1	İdrar Yolu Enfeksiyonu, Dermatit
118	E	3	Kronik Böbrek Yetmezliği, Hipotiroidizm, TOF
119	E	11	Üriner Sistem Enfeksiyonu, Alerjik Ürtiker
120	K	14	Akne Vukgaris, Böbrek Taşı
121	E	6	Üriner Sistem Enfeksiyonu, Böbrek Taşı
122	E	0,083	Polikistik Böbrek
123	K	1	Vezikoüreteral reflü, Üropati ile

124	K	7	Renal Agenezi
125	K	4	Üriner Sistem Enfeksiyonu, Aort Koarktasyonu
126	E	6	Akut Nefritik Sendromu, Böbrek Taşı
127	K	5	İdrar Yolu Enfeksiyonu, Böbrek Taşı
128	E	0,583	Hidronefroz, İdrar Yolu Enfeksiyonu, Konjenital Hidrosel
129	E	10	Sol UP darlık,Hidronefroz
130	K	1	Renal Agenezi
131	K	2	Renal Displazi, İdrar Yolu Enfeksiyonu
132	E	13	Üriner Sistem Enfeksiyonu, Flask Nöropatik Mesane
133	K	0,166	Vezikoüreteral reflü, Üriner Sistem Enfeksiyonu
134	E	9	Vezikoüreteral reflü
135	E	5	Kronik Böbrek Yetmezliği, Böbrek Nakli
136	E	1	Hidronefroz, Kistik Böbrek Hastalığı, Medular Kistik Böbrek
137	K	8	Vezikoüreteral reflü
138	K	8	Vezikoüreteral reflü, Üriner Sistem Enfeksiyonu
139	K	3	Vezikoüreteral reflü, Üriner Sistem Enfeksiyonu
140	K	2	Vezikoüreteral reflü
141	K	9	Vezikoüreteral reflü, İzole proteinüri, Puberte Prokoks
142	K	15	Kronik Böbrek Yetmezliği, Böbrek Nakli, İdrar Yolu Enfeksiyonu
143	K	6	Üriner Sistem Enfeksiyonu
144	K	12	Üriner Sistem Enfeksiyonu
145	K	3	Üriner İnkontinans, Üriner Sistem Enfeksiyonu