



**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**GLUTARİK ASİDÜRİ TİP 1 HASTALARINDA
BÖBREK İŞLEVLERİNİN İNCELENMESİ**

Dr. Emir Furkan ÖNEN

**UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

**ANKARA
2024**



**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**GLUTARİK ASİDÜRİ TİP 1 HASTALARINDA
BÖBREK İŞLEVLERİNİN İNCELENMESİ**

Dr. Emir Furkan ÖNEN

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Yılmaz YILDIZ**

**UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

**ANKARA
2024**

TEŞEKKÜR

Çalışmanın planlanması ve sonuçlarının yorumlanmasındaki çok önemli katkıları ve ABPM verilerinin eldesi için Prof. Dr. Ali Düzova'ya, ELISA çalışmalarındaki yardımları için Prof. Dr. İncilay Lay ve Yasin Kıran'a, üriner US ve renal Doppler US incelemelerini yapan Prof. Dr. Berna Oğuz'a,

Tez çalışmasına dahil edilen hastaların tanı ve tedavi süreçlerine katkıları için Prof. Dr. Turgay Coşkun, Prof. Dr. Ayşegül Tokatlı, Prof. Dr. Serap Sivri, Prof. Dr. Ali Dursun, Prof. Dr. R. Köksal Özgül, Dr. Öğr. Üyesi Didem Yücel Yılmaz, Dr. Öğr. Üyesi Kısmet Çıkı'ya,

Hastaların geçmiş verilerinin derlenmesi konusundaki yardımları için Doç. Dr. Berrak Bilginer Gürbüz'e,

Genetik analiz çalışmalarındaki katkıları için Dr. Ceren Alavanda'ya,

Hacettepe Üniversitesi Çocuk Metabolizma polikliniğinin değerli çalışanlarına,

Finansman için Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine (Proje no: THD-2022-20261),

Çalışmaya katılımları nedeniyle hastalarımıza, kontrol grubuna ve ailelerine,

Beni yetiştiren ve daima yanımda olan anneme, babama ve abime,

En büyük destekçim sevgili eşim Esmâ Altuntaş Önen'e teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Önen E.F., Glutarik Asidüri Tip 1 Hastalarında Böbrek İşlevlerinin İncelenmesi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Uzmanlık Tezi, Ankara, 2024. Glutarik asidüri tip 1 (GA1) kalıtsal metabolik bir hastalıktır. Glutaril-KoA dehidrojenaz (GCDH) enziminin eksikliğinden kaynaklanır. Hastalık temel olarak sinir sistemini etkiler. Son yıllarda, GA1’li hastalarda böbrek hasarının gelişebileceği ve yaşla birlikte böbrek işlevlerinin bozulabildiği gösterilmiştir. Ancak bu tutulumun hangi yaşta başladığı, böbreğin hangi bölgelerinin nasıl etkilendiği, bu hastalarda böbrek tutulumunu klinikte değerlendirmek için ne zaman hangi incelemelerin yapılması gerektiği konusunda yeterli bilgi yoktur. Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi Çocuk Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı Polikliniğinde izlenen, GA1 tanısı almış olan çocuk ve erişkin 16 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Hastaların demografik ve klinik verileri hastane kayıtlarından derlenmiştir. Rutin incelemelerin yanı sıra kan basıncı, renal ultrasonografi, Doppler ultrasonografi, serum sistatin C, idrarda β 2-mikroglobulin (B2MG), *Kidney Injury Molecule-1* (KIM-1), *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin* (NGAL), Uromodulin (UMOD) incelenmiştir. İdrar biyobelirteçleri için her hasta ile yaş ve cinsiyeti eşleştirilmiş ikişer sağlıklı kontrol alınmıştır. Hastalardan serum kreatinin ve sistatin C birlikte bakılmıştır. Kreatinin ve sistatin C kullanılarak tahmini glomerüler filtrasyon hızı (*estimated glomerular filtration rate*, eGFR) hesaplanmıştır. Kreatinine göre bakılan ortalama eGFR $118,93 \pm 17,83$ mL/dk/1,73m² ve sistatin C düzeylerine göre hesaplanan eGFR ortalaması $95,25 \pm 20,52$ mL/dk/1,73m² olarak bulunmuştur. Hastaların protein:kreatinin oranları [0.16 (0.09-0.22) ve 0.07 (0.05-0.10)] ve B2MG:kreatinin oranları [122.39 (67.40-200.05) ve 52.12 (31.03-103.43)] kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur ($p \leq 0.001$). Hastalar sistatin C formülü ile hesaplanan eGFR’ye göre değerlendirildiğinde, sekiz hastanın eGFR’si 90 mL/dk/1,73m²’nin üzerinde iken yedi hastanın eGFR’si 90 mL/dk/1,73m²’nin altında bulunmuştur. Sağ ve sol renal ven akım hızları eGFR<90 olan hastalarda daha düşükken boya göre vücut ağırlığı, serum alkalen fosfataz ve fosfor değerleri daha yüksek bulunmuştur. İki grup arasında idrar biyobelirteçlerinde anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Sonuç olarak, GA1 hastalığında erken yaşta bile eGFR düşüklüğü görülebilmektedir. Sistatin C ölçümleri böbrek izlemi için gereklidir çünkü kreatinin bazlı eGFR değerlendirmeleri yanıltıcıdır. Böbrek disfonksiyonu muhtemelen esas olarak tübüler kökenlidir. Üriner B2MG ve renal ven akım hızları biyobelirteç olarak daha ayrıntılı araştırılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Glutarik asidüri tip 1, böbrek hasarı, sistatin C, beta-2 mikroglobulin, renal ven akım hızı

Destekleyen Kuruluşlar: Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (Proje no: THD-2022-20261)

ABSTRACT

Önen E.F., Examination of Renal Functions in Patients with Glutaric Aciduria Type 1, Hacettepe University Faculty of Medicine, Pediatric Residency Thesis, Ankara, 2024. Glutaric aciduria type 1 (GA1) is an inherited metabolic disorder. It results from the deficiency of glutaryl-CoA dehydrogenase (GCDH) enzyme. The disease primarily affects the nervous system. In recent years, it has been demonstrated that renal damage may accompany GA1, and kidney functions can deteriorate with age. However, there is limited information on when this involvement begins, which kidney regions are affected, and which examinations should be performed when in order to assess kidney involvement in clinical practice. 16 children and adult patients diagnosed with GA1 and followed at Hacettepe University Ihsan Dogramaci Children's Hospital Department of Pediatric Metabolic Diseases were included in the study. Demographic and clinical data were collected from hospital records. In addition to routine examinations, the study included the evaluation of blood pressure, renal ultrasonography, Doppler ultrasonography, serum cystatin C levels, and urinary biomarkers including β 2-microglobulin (B2MG), *Kidney Injury Molecule-1* (KIM-1), *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin* (NGAL), and Uromodulin (UMOD). A control group consisting of two healthy individuals matched for age and gender for each GA1 patient was also included. Serum creatinine and cystatin C levels both were measured in the patients to estimate the glomerular filtration rate (eGFR). The mean eGFR based on creatinine was 118.93 ± 17.83 and the eGFR based on cystatin C values was 95.25 ± 20.52 ml/min/1.73 m². The patients' urine protein to creatinine ratios [0.16 (0.09-0.22) and 0.07 (0.05-0.10)] and B2MG to creatinine ratios [122.39 (67.40-200.05) and 52.12 (31.03-103.43)] were significantly higher compared to the control group ($p \leq 0.001$). When evaluated according to eGFR based on cystatin C, eight patients had eGFR above 90 ml/min/1.73 m², while seven patients had eGFR below 90 ml/min/1.73 m². Right and left renal vein flow velocities were lower in patients with eGFR < 90, while weight for height, serum alkaline phosphatase, and phosphorus values were higher. Urinary protein biomarkers did not significantly differ between the two groups. Renal involvement can be observed in GA1, even at a young age. Cystatin C measurements are mandatory in renal surveillance because creatinine-based eGFR is misleading. Renal dysfunction is probably mainly tubular in origin. Urinary B2MG and renal vein flow velocities should be explored further as biomarkers.

Keywords: Glutaric aciduria type 1, kidney injury, cystatin C, beta-2 microglobulin, renal vein flow velocity

Supported by: Hacettepe University Scientific Research Projects Coordination Unit (Project no: THD-2022-20261)

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kalıtsal Metabolik Hastalıklar	3
2.2. Glutarik Asidüri Tip 1	6
2.2.1. Glutarik Asidüri Tip 1'in Genel Özellikleri	6
2.2.2. Klinik Belirti ve Bulgular	7
2.2.3. Tanı	8
2.2.4. Tedavi	10
2.3. Kronik Böbrek Hastalığı	11
2.3.1. Kronik Böbrek Hastalığının Genel Özellikleri	11
2.3.2. Glomerüler ve Tübüler İşlevler	13
2.4. Dalı Zincirli Organik Asidemilerde Kronik Böbrek Hastalığı	16
2.5. Glutarik Asidüri Tip 1 ve Böbrek Hasarı	19
2.6. Amaç	21
3. GEREÇ ve YÖNTEM	22
3.1. Bireylerin Dahil Edilme Ölçütleri	22
3.2. Araştırma protokolü	23
3.3 İstatistiksel Yöntemler	26
4. BULGULAR	28
4.1. Hastaların Tanı Süreçleri, Öykü ve Muayene Bulguları	28
4.2. Temel Laboratuvar İncelemeleri	37
4.3. Böbrek İşlevleri	39

4.4. Renal Ultrasonografi ve Doppler Ultrasonografisi Bulguları	60
4.5. Hasta ve Kontrol Grubu Tetkiklerinin Karşılaştırılması	66
4.6. Tahmini Glomerüler Filtrasyon Hızına Göre Değerlerin Karşılaştırılması	67
4.7. Nörolojik Tutulumu Göre Değerlerin Karşılaştırılması	78
5. TARTIŞMA	81
5.1. Hastaların Genel Özellikleri	81
5.2. Böbrek İşlevleri	85
5.3. Tübüler Belirteçler	90
5.4. Renal Ultrasonografi ve Doppler Ultrasonografi	95
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	98
7. KAYNAKLAR	101
8. EKLER	114
EK-1. Etik Kurul Onayı	114
EK-2. Veri Değerlendirme Formu	115
EK-3. KIM1, UMOD ve NGAL ölçümleri için üreticinin önerdiği protokoller	118
EK-4. Orta güçlü korelasyon analizleri	143
EK-5. Güçlü korelasyon analizlerinin grafikleri	145
EK-6. Kontrol Grubunun Korelasyon Analizleri	160

SİMGELER ve KISALTMALAR

μ: Mikro

r: Pearson korelasyon katsayısı

ρ: Spearman korelasyon katsayısı

ACE: Anjiyotensin dönüştürücü enzim

ALP: Alkalen fosfataz

ALT: Alanin aminotransferaz

AST: Aspartat aminotransferaz

B2MG: Beta-2 mikroglobulin

BGVA: Boya göre vücut ağırlığı

C5DC: Glutarilkarnitin

CDG: Konjenital glikolizasyon defekti

eGFR: Tahmini glomerüler filtrasyon hızı

E-IMD: *European Registry and Network for Intoxication Type Metabolic Diseases*

FAD: Flavin adenin dinükleotid

FeNa: Fraksiyone sodyum atılımı

GA1: Glutarik asidüri tip 1

GCDH: Glutaril-KoA dehidrojenaz

GC-MS: Gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi

GFR: Glomerüler filtrasyon hızı

GGT: Gama glutamil transferaz

HE: *High excretor*

HT: Hipertansiyon

KBH: Kronik böbrek hastalığı

KDIGO: *Kidney Disease: Improving Global Outcomes*

KIM-1: *Kidney Injury Molecule-1*

LE: *Low excretor*

MMA: Metilmalonik asidemi

MRG: Manyetik rezonans görüntüleme

MS/MS: Ardışık kütle spektrometrisi

NGAL: *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin*

PA: Propiyonik asidemi

RI: *Resistivity index*

TRP: Tübüler fosfat reabsorpsiyonu

UMOD: Uromodulin

US: Ultrasonografi

VKİ: Vücut kitle endeksi

YGB: Yaşa göre boy

YGVA: Yaşa göre vücut ağırlığı

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Lizin, hidrokisilizin ve triptofan katabolizması	6
Şekil 2.2. Nefron yapısı ve tübüllere özgü biyobelirteçler	14
Şekil 2.3. Propiyonat metabolizmasının şematik özeti	17
Şekil 4.1. Sistatin C'ye göre eGFR ile kreatinine göre eGFR'nin Bland-Altman grafiği	44
Şekil 4.2. Sistatin C ve kreatinine göre eGFR ile kreatinine göre eGFR'nin Bland-Altman grafiği	45
Şekil 4.3. Sistatin C'ye göre eGFR ile kreatinine ve sistatin C'ye göre eGFR'nin Bland Altman grafiği	45
Şekil 4.4. Hasta ve kontrollerin yaşlarına göre spot idrar protein:kreatinin oranlarının dağılımı	47
Şekil 4.5. Hasta ve kontrollerin yaşlarına göre spot idrar albümin:kreatinin oranlarının dağılımı	47
Şekil 4.6. Hasta ve kontrollerin yaşlarına göre spot idrar B2MG:kreatinin oranlarının dağılımı	53
Şekil 4.7. Hasta ve kontrollerin yaşlarına göre spot idrar B2MG:kreatinin oranlarının ekstrem değeri olan bir hastanın (Hasta#12) çıkartılarak dağılımı	53
Şekil 4.8. Hasta ve kontrollerin yaşlarına göre spot idrar KIM1:kreatinin oranlarının dağılımı	54
Şekil 4.9. Hasta ve kontrollerin yaşlarına göre spot idrar NGAL:kreatinin oranlarının dağılımı	54
Şekil 4.10. Hasta ve kontrollerin yaşlarına göre spot idrar UMOD:kreatinin oranlarının dağılımı	55
Şekil 4.11. Spot idrar protein:kreatinin ve UMOD:kreatinin oranları	58
Şekil 4.12. Spot idrar protein:kreatinin ve UMOD:kreatinin oranlarının ekstrem değeri olan hasta çıkarılarak oluşturulan eğilim çizgisi	58
Şekil 4.13. Spot idrar B2MG:kreatinin ve UMOD:kreatinin oranları	59
Şekil 4.14. Spot idrar B2MG:kreatinin ve UMOD:kreatinin oranlarının ekstrem değeri olan hasta çıkarılarak oluşturulan eğilim çizgisi	59

TABLOLAR

Tablo	Sayfa
Tablo 4.1. Tanı yaşları ve akut ensefalopatik kriz geçirme durumları	29
Tablo 4.2. Glutarik asidüri tip 1 tanısı için kullanılan biyobelirteçlerin tanı sırasındaki ve çalışma yapıldığı sıradaki düzeyleri	29
Tablo 4.3. Genetik analizler	30
Tablo 4.4. Beyin manyetik rezonans görüntüleme bulguları	30
Tablo 4.5. Nörolojik belirti ve bulgular	31
Tablo 4.6. Kaba motor ve bilişsel gelişim durumu	32
Tablo 4.7. Karnitin, riboflavin ve diğer ilaç kullanımları	32
Tablo 4.8. Hastaların diyetle aldıkları günlük doğal, yapay ve toplam protein miktarları	33
Tablo 4.9. Hastaların antropometrik ölçümleri	34
Tablo 4.10. Hastaların antropometrik ölçümleri ile ensefalopatik atakların ve protein alımlarının korelasyonları	35
Tablo 4.11. Hastaların ofis kan basıncı ölçümleri	36
Tablo 4.12. 24 saatlik ambulator kan basıncı değerleri	36
Tablo 4.13. Tam kan sayımı sonuçları ve karaciğer fonksiyon testleri	38
Tablo 4.14. Nutrisyon ilişkili laboratuvar incelemeleri	39
Tablo 4.15. Serum elektrolit, albümin, protein, ürik asit düzeyleri	40
Tablo 4.16. Venöz kan gazı parametreleri	41
Tablo 4.17. Serum kreatinin, sistatin C, kan üre azotu ve bunlar kullanılarak hesaplanan kreatinin klirensi ve glomerüler filtrasyon hızları	42
Tablo 4.18. Serum kreatinin, üre azotu ve sistatin C ile diğer tetkiklerin korelasyon analizleri	43
Tablo 4.19. Farklı formüllere ait eGFR hesaplamalarının karşılaştırılması	44
Tablo 4.20. Spot idrar kreatinin, protein ve albümin değerleri	46
Tablo 4.21. Spot idrar tetkiklerinin korelasyon analizleri	48
Tablo 4.22. Spot idrardaki elektrolit atılımları	49
Tablo 4.23. Hasta ve kontrol gruplarının tübüler belirteçleri	51
Tablo 4.24. Beta-2-mikroglobulin ve B2MG:kreatinin oranlarının diğer tetkikler ile korelasyon analizleri	55

Tablo 4.25. Tübüler biyobelirteçlerin diğer tetkikler ile korelasyon analizi	57
Tablo 4.26. Sağ böbrek ultrasonografisine ve Doppler incelemesine ait ölçümler	61
Tablo 4.27. Sol böbrek ultrasonografisine ve Doppler incelemesine ait ölçümler	62
Tablo 4.28. Sağ renal ven akım hızı ile korelasyon veren tetkikler	63
Tablo 4.29. Sol renal ven akım hızı ile korelasyon veren tetkikler	63
Tablo 4.30. Hasta boylarına göre sağ böbrek uzunluk persentilleri	64
Tablo 4.31. Hasta boylarına göre sol böbrek uzunluk persentilleri	64
Tablo 4.32. Boya göre böbrek uzunluğu ile malnütrisyon ve eGFR durumlarının karşılaştırılması	65
Tablo 4.33. Hasta ve kontrol grubunun idrar değerlerinin karşılaştırılması	66
Tablo 4.34. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m ² 'nin altında ve üstünde olan hastaların cinsiyet ve eşlik eden özelliklere göre karşılaştırılması	67
Tablo 4.35. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m ² 'nin altında ve üstünde olan hastaların MRG bulgularının karşılaştırılması	68
Tablo 4.36. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m ² 'nin altında ve üstünde olan hastaların tanı anındaki değerlerinin karşılaştırılması	69
Tablo 4.37. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m ² 'nin altında ve üstünde olan hastaların kullanmakta oldukları ilaç dozlarına, aldıkları protein miktarlarına ve konstitüsyonel parametrelerine göre karşılaştırılması	70
Tablo 4.38. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m ² 'nin altında ve üstünde olan hastaların tam kan sayımı ve karaciğer fonksiyon testlerinin karşılaştırılması	71
Tablo 4.39. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m ² 'nin altında ve üstünde olan hastaların böbrek fonksiyon testlerinin karşılaştırılması	72
Tablo 4.40. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m ² 'nin altında ve üstünde olan hastaların venöz kan gazı parametrelerinin karşılaştırılması	72

Tablo 4.41. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m ² 'nin altında ve üstünde olan hastaların diğer eGFR formülleri ile karşılaştırılması	73
Tablo 4.42. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m ² 'nin altında ve üstünde olan hastaların spot idrar tetkiklerinin karşılaştırılması	74
Tablo 4.43. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m ² 'nin altında ve üstünde olan hastaların spot idrardan alınan tübüler biyobelirteçlerinin karşılaştırılması	75
Tablo 4.44. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m ² 'nin altında ve üstünde olan hastaların mevcut metabolik tetkikleri ile karşılaştırılması	75
Tablo 4.45. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m ² 'nin altında ve üstünde olan hastaların sağ renal US ve Doppler US verilerinin karşılaştırılması	76
Tablo 4.46. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m ² 'nin altında ve üstünde olan hastaların sol renal US ve Doppler US verilerinin karşılaştırılması	77
Tablo 4.47. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m ² 'nin altında ve üstünde olan hastaların anlamlı bulunan farklılıkları	77
Tablo 4.48. Nörolojik etkilenme durumuna göre protein alımlarının ve konstitüsyonel parametrelerin karşılaştırılması	78
Tablo 4.49 Nörolojik etkilenme durumu ile malnütrisyon ve sistatin C'ye göre eGFR	79
Tablo 4.50. Nörolojik etkilenme durumuna göre böbrek işlevleri	80

1. GİRİŞ

Glutarik asidüri tip 1 (GA1) kalıtsal metabolik bir hastalıktır. Glutaril-KoA dehidrojenaz (GCDH) enziminin eksikliğinden kaynaklanır (1). Hastalık temel olarak sinir sistemini etkiler. Hastaların çoğunda tetikleyici bir etken sonrasında gerçekleşen ensefalopatik krize bağlı akut beyin hasarı oluşur. Bu krizlerden sonra emme ve yutma refleksleri, baş kontrolü, oturma, ayağa kalkma gibi nörolojik işlevler sıklıkla akut bir şekilde yitilir. Boyun ve gövdede hipotoni, kol ve bacaklarda distoni, hipertoni ve koreatetoid hareketler görülebilir. Bazı hastalarda jeneralize nöbetler olabilir. Ciddi bir distonik-hipotonik hareket bozukluğu gelişebilir. Bu açılarından bakıldığında GA1 serebral bir organik asidemi olarak da değerlendirilmektedir (2-5).

Son yıllarda, GA1’li hastalarda böbrek hasarının eşlik edebildiği ve yaşla birlikte böbrek işlevlerinin bozulabildiği gösterilmiştir (6). Ancak bu tutulumun hangi yaşta başladığı, böbreğin hangi bölgelerinin nasıl etkilendiği, bu hastalarda böbrek tutulumunu klinikte değerlendirmek için ne zaman hangi incelemelerin yapılması gerektiği konusunda yeterli bilgi yoktur. Bu nedenle çalışmamızda GA1 hastalığında böbrek tutulumunun özelliklerini ortaya konulması amaçlanmıştır. Bu bağlamda GA1 hastalarının ayrıntılı renal değerlendirmeleri yapılarak böbrek tutulumunun hangi sıklıkta görüldüğü, hangi yaş gruplarında daha fazla beklendiği, böbreğin hangi bölgesinin ya da bölgelerinin etkilendiği ve bu etkilenimlerin klinik olarak hangi sonuçlara yol açtığını sorularına yanıtlar aranmıştır. Erişilecek bu bilgilerin, GA1 hastalığının izlem ve tedavi süreçlerini iyileştirmesi beklenmiştir.

Değerlendirme kapsamında; böbrek işlevlerinin araştırılması için rutinde kullanılan elektrolit, kan gazı, üre, kreatinin ölçümleri yapılmıştır. Ek olarak serum sistatin C ile glomerüler filtrasyon hızı belirlenmiştir. Doppler dahil ultrasonografik renal görüntüleme yapılmıştır. Nefronun farklı bölgelerindeki hasarları işaret edecek çeşitli belirteçlerin [albümin, protein, β 2-mikroglobulin, *Kidney Injury Molecule-1* (KIM-1), *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin* (NGAL), Uromodulin (UMOD)] idrarda ölçümü ve 24 saatlik ambulator kan basıncı monitorizasyonu yapılmıştır.

Kronik böbrek hastalığının birçok etiyolojisinde glomerüler filtrasyon hızının azalması geç bir bulgu olarak görülmektedir. Bu nedenle projemizde serum kreatinin, sistatin C ve GFR değerlendirilmelerine ek olarak klinik, radyolojik ya da laboratuvar

yöntemlerle kronik böbrek hastalığı açısından artmış risk altında olan hastaların belirlenmesi hedeflenmiştir.

GA1 ile ilgili fare modellerinde ve kronik böbrek hastalığı ile yakından ilişkili diğer bir organik asidemi olan metilmalonik asidemide tübüler disfonksiyonun, özellikle proksimal tübülopatinin temel olay olduğu gösterilmiştir (7-11). Çalışmamız, tübüler işlevlerin ayrıntılı ve tübülün farklı bölgelerine özgü belirteçler yardımıyla değerlendirilmesi sayesinde olası tübüler disfonksiyonu araştırmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kalıtsal Metabolik Hastalıklar

Biyokimyasal bir yolaktaki bozukluğun hastalık patogeneğinde temel rol oynadığı kalıtsal bozukluklar kalıtsal metabolik hastalıklar olarak tanımlanır (12, 13). Bu hastalıklar, metabolik engelin proksimalinde toksik bir substratın birikmesine, distalinde ürün eksikliğine veya substratın alternatif bir yola sapmasına yol açarak hastalığa yol açabilir (14). Sürekli güncellenen bir çevrimiçi veritabanına göre 1900'den fazla kalıtsal metabolik hastalık tanımlanmıştır (15).

Kalıtsal metabolik hastalıklar genellikle otozomal resesif kalıtılmakla beraber otozomal dominant ve X'e bağlı geçiş olan tipler de mevcuttur. Mitokondrideki biyokimyasal yolları etkileyen hastalıkların bazıları da mitokondriyal DNA'daki mutasyonlardan kaynaklanır. Genetik bozukluklar; nokta mutasyonları, delesyonları, insersiyonları, enzimlerde veya taşıyıcılarda işlev kaybı veya kazanımı ile sonuçlanan kromozomal değişiklikleri içerir (16).

Kalıtsal metabolik hastalıklar nadir hastalıklardır. Her bir bozukluk tek başına nadir olmasına rağmen, bir grup olarak ele alındıklarında sayıca çok oldukları için yaygın oldukları söylenebilir; genel prevalans West Midlands, Birleşik Krallık'ta 784 kişide 1, Britanya Kolumbiyası, Kanada'da 2500 kişide 1 ve İtalya'da 2555 kişide 1'dir (14). Bazı toplumlarda metabolik hastalık sıklığı daha yüksek olabilir. Bunun nedeni kurucu ("*founder*") etkisi nedeniyle taşıyıcılık sıklığının fazla olması (ör. Faroe Adaları'nda karnitin taşıyıcısı eksikliği) ya da akraba evlilikleri nedeniyle otozomal resesif hastalıkların sık görülmesi olabilir (17). Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması 2018 verilerine göre, Türkiye'de akraba evliliği oranı %24'tür (18). Akraba evliliğinin sık olması otozomal resesif hastalıkların daha sık görülmesine yol açmaktadır. Bu nedenle Türkiye'de kalıtsal metabolik hastalıklar önemli bir sağlık sorunudur.

Kalıtsal metabolik hastalıklar yenidoğanlarda, bebeklerde ve küçük çocuklarda akut belirti ve bulgularla ortaya çıkabilir. Genellikle beslenme güçlüğü ve letarji görülür. Kusma, solunum sıkıntısı, koma gibi sepsis ile karışabilecek belirtiler kalıtsal bir metabolik hastalığı işaret ediyor olabilir. Akut ensefalopatiye neden olabilen bu kalıtsal metabolik hastalıklar arasında organik asidemiler, üre döngüsü bozuklukları, bazı amino asit metabolizması bozuklukları ve enerji metabolizması bozuklukları

sayılabilir. Akut ensefalopati ile seyreden metabolik hastalıklarda hipoglisemi, hiperamonemi, ketozis, metabolik asidoz gibi biyokimyasal ipuçları saptanabilir; ancak bazı hastalıklarda kan ve idrarda rutin laboratuvar incelemeleri ile tespit edilebilen bir anormallik olmayıp özel metabolik incelemeler yapılması gerekebilir (19).

Bazı metabolik hastalıklarda erken ya da geç dönemde başlayan kronik, bazen ilerleyici çoklu sistem ya da organ tutulumu görülebilir. En çok nörolojik sistemle ilgili bulgular gelişir. Nörolojik bulgular gelişimsel veya psikomotor gecikme, nöbetler, hareket bozuklukları, işitme ve görme kayıpları şeklinde görülebilir. Tirozinemi tip I, hereditör fruktoz intoleransı, konjenital glikolizasyon defektleri (CDG), alfa-1-antitripsin eksikliği, Wilson hastalığı ve mitokondriyal hastalıklar gibi birçok hastalık siroza yol açabilir. Lizozomal depo hastalıkları, özellikle mukopolisakkaridozlar, ilerleyici seyir ile karakterizedir. Karnitin taşıyıcısı eksikliği, Pompe hastalığı, Fabry hastalığı, CDG'ler ve bazı mitokondriyal hastalıklarda kardiyomiyopati ve başka kardiyak bulgular görülebilir. Kas güçsüzlüğü ve bazen rabdomiyoliz glikojen depo hastalıkları, mitokondriyal hastalıklar ve yağ asidi oksidasyon bozukluklarında görülebilir. Galaktozemi ve hereditör fruktoz intoleransı, tedavi edilmezse proksimal tübül fonksiyon bozukluğuna ve böbrek yetmezliğine yol açar. Tirozinemi tip I genellikle hipofosfatemi ve raşitizmle sonuçlanan tübüler fonksiyon bozukluğuna sebep olur. Sistinozis, son dönem böbrek yetmezliğine yol açan glomerüler fonksiyonun azalmasıyla ilişkilidir (19).

Kalıtsal metabolik hastalıkların bazılarında özgül tedavi seçenekleri mevcuttur. Bu tedavi seçenekleri çok çeşitlidir. Biriken maddelerin ya da öncüllerinin diyet ile alımının azaltılması (beslenme tedavisi), yapımlarının önlenmesi (substrat azaltma tedavisi), ilaçlar veya diyaliz gibi uygulamalarla vücuttan uzaklaştırılması, vücutta üretilmeyen küçük moleküllerin dışarıdan verilmesi (suplementasyon), eksik olan enzimlerin rekombinant proteinler (enzim replasman tedavisi), doku veya organ nakilleri ya da gen tedavileri ile yerine konması gibi değişik yöntemleri içerebilir. Tedavi başarı şansı, erken ya da mümkünse asemptomatik dönemde tanı konulması ile artmaktadır. Bu nedenle, tedavi edilmediğinde bebeklik döneminden başlayarak geri dönüşü olmayan ağır bulgularla seyreden, erken başladığında etkili tedavisi olan,

biyobelirteci duyarlı ve özgül bir test ile ölçülebilen bazı metabolik hastalıklar için yenidoğan taramaları yapılmaktadır (20).

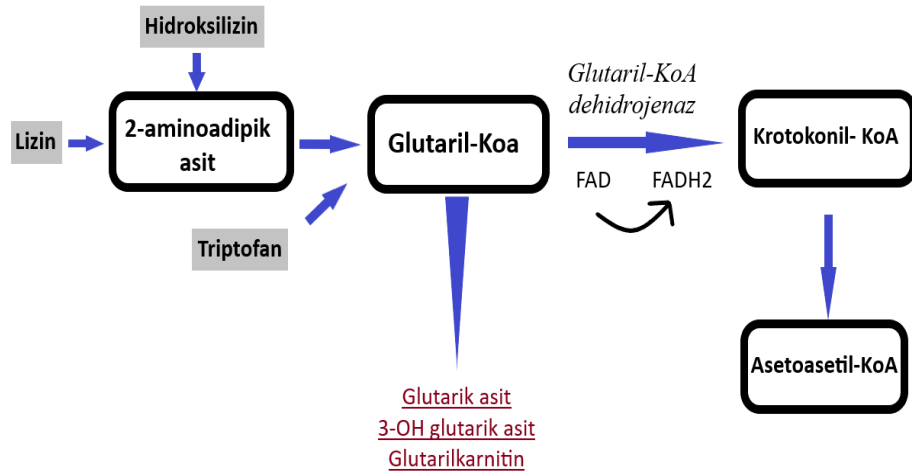
Diyet tedavisi; aminoasit metabolizması bozukluklarının, organik asidüri ile üre döngüsü bozuklukları gibi küçük moleküllü metabolik hastalıkların, galaktozemi ile kalıtsal fruktoz intoleransı gibi karbonhidrat metabolizması bozukluklarının ve glikojen depo hastalıkları ile yağ asitleri oksidasyon kusurları gibi enerji metabolizması bozukluklarının tedavisinin temel dayanağını oluşturur. Diyet tedavisinin ana amacı, metabolik engelin önündeki substrat birikimin azaltılması ya da hatalı biyokimyasal yolağı kullanmayıp alternatif son ürün kaynaklarının sağlanmasıdır. Üre döngüsü bozukluklarında nötoroksik olan amonyağın atılımını sağlamak için sodyum benzoat ve sodyum fenilasetat verilmesi toksik metabolitlerin uzaklaştırılmasına örnek gösterilebilir. Substrat azaltma tedavisinin temel ilkesi, biriken toksik substratların biyosentezini azaltmak için küçük moleküllü bir ilaç kullanmaktır. Gaucher hastalığında kullanılan miglustat ve eliglustat, substrat redüksiyon tedavisinin örnekleridir (21). Bazı kalıtsal metabolik hastalıklar üretim yetersizliğinden veya önemli bir ürünün geri dönüştürülmesindeki kusurdan kaynaklanır. Biyotinidaz eksikliği olan hastalarda kullanılan biyotin takviyesi, bu tedavi grubuna güzel bir örnektir (22). Enzim replasman tedavisi; Gaucher hastalığı, Fabry hastalığı, Pompe hastalığı, mukopolisakkaridoz tip I, II, IVA ve VI ile lizozomal asit lipaz eksikliğinde kullanılmaktadır (21). Hematopoietik kök hücre ve kemik iliğı nakli, sağlıklı verici hücrelerinin, alıcının enzim eksikliği olan kemik iliğinde kolonize olmasına olanak tanır ve bir enzim replasman kaynağı sağlar. Bu yaklaşım son yıllarda, lizozomal depo hastalıkları, mukopolisakkaridozlar, metakromatik lökodistrofi, Krabbe hastalığı, X'e bağlı adrenolökodistrofi, α -mannosidoz, fukoizidoz ve ilerleyici Gaucher hastalığı tip 3 gibi birçok hastalık grubunda denenmiştir. Tedavi başarısı hastalıktan hastalığa değişmektedir (23). Metabolizmanın pek çok enzimatik reaksiyonu karaciğerde meydana geldiğinden karaciğer nakli, eksik enzimin yerini alabilir ve çoğu üre döngüsü bozukluğu gibi bazı karaciğer bazlı kalıtsal metabolik hastalıklar için sıklıkla tedavi edicidir (24). Kalıtsal metabolik hastalıklar tek gen hastalıklarıdır ve teorik olarak mutasyona uğramış genin değiştirilmesi kesin bir tedavi sağlayacaktır. Gen tedavisi içerisinde birçok zorluğu barındırmakla beraber bu alanda ilerlemeler devam etmektedir (21).

2.2. Glutarik Asidüri Tip 1

2.2.1. Glutarik Asidüri Tip 1'in Genel Özellikleri

Glutarik asidüri tip 1 (GA1, OMIM #608801); lizin, hidroksilizin ve triptofan metabolizmasının otozomal resesif bir bozukluğudur. Glutaril-KoA dehidrojenaz (GCDH) enziminin kalıtsal eksikliğinden kaynaklanır (1).

Mitokondriyal matrikste bulunan GCDH enzimi (EC 1.3.8.6), açıl-KoA tiyoesterlerinin 2-enoil-KoA ürünlerine oksidasyonunu katalize eden flavoproteinlerin açıl-KoA dehidrojenaz ailesinin bir üyesidir. GCDH enzimi glutaril-KoA'dan glukonil-KoA üretimini katalize eder ve elektronları flavin adenin dinükleotide (FAD) aktarır (Şekil 2.1) (25, 26).



Şekil 2.1. Lizin, hidroksilizin ve triptofan katabolizması

Glutaril-KoA dehidrojenaz enzim eksikliği, *GCDH* genindeki biallelik mutasyonlarına bağlı gelişir. *GCDH* geni insanda kromozom 19p13.2 üzerinde bulunur ve 12 ekzondan oluşur. 2022 yılında yapılan kapsamlı bir literatür taramasında *GCDH* genine ait 421 farklı patojenik varyant tespit edilmiştir. Başka bir kohortta 7., 9. ve 10. ekzonlar en çok mutasyona uğramış kodlama bölgeleri olarak tanımlanmıştır. Şimdiye kadar, p.Arg402Trp'nin çeşitli çalışmalarda en şiddetli ve yaygın (%21,21)

patojenik değişikliklerden biri olduğu ve beyaz ırktaki mutasyonların yaklaşık %20'sinden sorumlu olduğu bildirilmiştir (27, 28).

2.2.2. Klinik Belirti ve Bulgular

Bebeklerin çoğu doğumda asemptomatiktir, bazı bebeklerde hipotoni ve motor gelişim geriliği gibi özgül olmayan nörolojik belirtiler gelişebilir; bu belirti ve bulguların birçok hastalıkta görülebilmesi, etkilenen bireylerin klinik olarak ayırt edilmesini zorlaştırır (29). Birçok hastada nörolojik bulgulardan daha önce makrosefali görülür. Erken teşhis için önemli bir ipucu, yüzdelik dilimleri açan ve 3-6 aylıkken zirveye ulaşan patolojik olarak artan kafa büyümesinin gözlenmesidir (30).

Hastaların çoğunda yaklaşık 9 aylıkken; enfeksiyon, aşı, ameliyat için aç kalma gibi durumlar sonrasında gerçekteşen ensefalopatik krize bağlı akut beyin hasarı olur (4). Ensefalopatik krizlerin neredeyse tamamı yaşamın ilk 36 ayında meydana gelmiştir; okul çağında, ergenlik döneminde veya yetişkinlikte henüz tanımlanmamıştır. Oturma, ayağa kalkma, baş kontrolü, emme ve yutma refleksleri gibi nörolojik işlevler sıklıkla akut bir şekilde yitirilir. Bebeklerde boyun ve gövdede derin hipotoni, kol ve bacaklarda distoni, hipertoni ve ekstremitelerde koreatetoid hareketler görülebilir. Bazı hastalarda jeneralize nöbetler olabilir. Daha sonra ciddi bir distonik-hipotonik hareket bozukluğu gelişir. Altta yatan metabolik bozukluk teşhis edilmezse, diğer beyin sistemleri de yavaş ama ilerleyici şekilde etkilenir. Çiğneme ve yutma bozuklukları, kusma ve aspirasyon, artan kas tonusu nedeniyle artan enerji ihtiyacı sıklıkla büyüme geriliği ile sonuçlanır. Kifoskolyoz ve göğüs duvarı distonisi restriktif akciğer hastalığına neden olabilir. Erken ölüm (20 yaşına kadar semptomatik hastaların %40-50'si), pnömoni ve solunum yetmezliği sırasında, hiperpireksik-distonik krizler sırasında veya herhangi bir uyarı olmaksızın aniden ortaya çıkabilir (2, 3, 5).

Makrosefali, Sylvian fissürün genişlemesi ve frontotemporal kortikal atrofi gibi erken nöroradyolojik bulgular herhangi bir motor defisit öncesinde veya yokluğunda ortaya çıkabilir. Bazal gangliyonların, özellikle kaudat ve putamenin dejenerasyonu, daha sonra motor bozuklukların başlamasıyla birlikte gelişir (31).

Tedavi edilmediğinde, bebeklerin %80-90'ında, araya giren ateşli hastalık veya cerrahi müdahalenin tetiklediği akut ensefalopatik krizin ardından, beyin gelişiminin

hassas bir döneminde (çoğunlukla 3-36 ay arasında) geri dönüşü olmayan striatal hasar gelişecektir (29). Bu durum, özellikle putamenleri etkileyen ve dorsolateralden ventromedial yönler yayılan akut striatal hasara ve ardından distoninin baskın olduğu kompleks bir hareket bozukluğuna neden olur. Şiddetli hareket bozukluğu, status distonikusa ilerleyebilir ve sıklıkla ikincil komplikasyonlar nedeniyle sınırlı yaşam beklentisiyle sonuçlanır (4). Striatal hasar genellikle bilateral olmasına rağmen, hemidistoni ile birlikte unilateral striatal nekroz da bildirilmiştir (32).

Akut başlangıcın yanı sıra, görünürde bir kriz olmaksızın sinsi başlangıçlı tipte striatal yaralanması olan hastalar da gözlenmiştir. Akut başlangıçlı hareket bozukluğunun aksine, sinsi başlangıçlı striatal hasar genellikle dorsolateral putamenlerle sınırlıdır, distoni daha hafiftir, bebeklik döneminde veya uzun yıllar süren bir latent dönemden sonra klinik olarak ortaya çıkabilir (29). Bazı bireylere ergenlik veya yetişkinlik döneminde (geç başlangıçlı) baş ağrısı, vertigo, geçici ataksik yürüyüş, ince motor becerilerde azalma veya egzersiz sonrası bayılma gibi özgül olmayan nörolojik belirtilerle tanı konmuştur (33). Bu hastaların beyin manyetik rezonans görüntülemelerinde striatum etkilenmezken; periventriküler beyaz madde anormallikleri, frontotemporal hipoplazi ve subependimal nodüller gibi karakteristik bulgular saptanmıştır (34).

Glutarik asidüri tip 1'li bebeklerde atrofi nedeniyle genişlemiş subdural aralıktaki köprü venleri korunmasız kalır. Bu bebekler, özellikle yürümeye başladıkları dönemlerde, minör kafa travmasından sonra retinal kanamalar da dahil olmak üzere subdural kanamalara maruz kalma eğilimindedir. Bu bebekler, kronik, subakut veya akut subdural ve/veya retina kanaması nedeniyle yanlış bir şekilde istismar tanısı alabilmektedir (30).

2.2.3. Tanı

Glutaril-KoA dehidrojenaz enzim eksikliği glutarik asit, 3-hidroksiglutarik asit, glutakonik asit ve glutarilkarnitin birikmesine neden olur (Bkz Şekil 2.1) (35). Bu maddeler, vücut sıvılarında (idrar, plazma, beyin omurilik sıvısı) ve dokularda gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) veya ardışık kütle spektrometrisi (MS/MS) ile tespit edilerek tanıya yönlendirebilir (36). Zayıf asitlerin vücut sıvılarında artışı ile seyretmesi nedeniyle “organik asidemi” grubundaki metabolik hastalıklar

arasında sınıflandırılır; ancak lösin, izolösin, valin gibi dallı zincirli amino asitlerin yıkım yolağındaki bozukluklardan kaynaklanan izovalerik asidemi, metilmalonik asidemi, propiyonik asidemi gibi dallı zincirli organik asidemilerden farklı olarak hiperamonemi, metabolik asidoz, ketozis gibi kan ve idrarda kolayca saptanabilen anormalliklere yol açmadığı için geleneksel olarak bir “serebral organik asidemi” kabul edilir (37).

İdrardaki glutarik asit konsantrasyonuna bakılarak biyokimyasal olarak iki alt grup belirlenmiştir: Glutarik asit atılımı az olanlar (“*low excretors*,” LE) ve fazla olanlar (“*high excretors*,” HE). HE hastaların idrarlarında ölçülen glutarik asit ve 3-hidroksiglutarik asit düzeyi belirgin bir şekilde yüksek iken LE hastalarda bu düzey orta miktarda artmış (glutarik asit <100 mmol/mol kreatinin) veya normaldir. LE hastalarda GCDH enzim aktivitesi %3-30 arasında, HE hastalarda ise %0-2 arasındadır. Biyokimyasal alt gruplar ile klinik fenotip arasındaki ilişki tartışmalıdır (27, 34, 35).

Makrosefali, akut ensefalopati, hareket bozukluğu, nöroradyolojik bulgular ile vücut sıvılarında glutarik asit, 3-hidroksiglutarik asit ve glutarilkarnitinin birikimi tanıda yol gösterici olmakla beraber GA1 hastalığının kesin tanısı için hastalığa neden olan *GCDH* genotipinin veya azalmış olan enzim aktivitesinin gösterilmesi gerekir. *GCDH* enzim aktivitesi ölçümü lökositlerde ya da kültürde çoğaltılmış fibroblastlarda sadece referans laboratuvarlarında yapıldığı için günümüzde tanıyı kesinleştirmek için hemen her zaman genetik incelemeler tercih edilir (29).

Glutarik asidüri tip 1 birçok ülkede yenidoğan taraması kapsamına alınmıştır ve bu taramayı yapan ülke sayısı gün geçtikçe artmaktadır (38). Kuru kan numunelerinde ölçülen glutarilkarnitin (C5DC) yüksekliği, GA1'in kütle spektrometre tabanlı yenidoğan taramasında kullanılan biyobelirteçtir (39).

Pozitif yenidoğan tarama sonuçları, klinik veya nöroradyolojik belirtiler tanısız çalışmalarla doğrulanmalıdır. İdrarda glutarik asit ve 3-hidroksiglutarik asitin atılımı artmış bulunursa ya da klinik şüphe varsa moleküler genetik ya da enzimatik inceleme yapılmalıdır (29). Glutarik asidüri tip 1'in dünya çapında görülme sıklığı 100.000-210.000 canlı doğumda birdir (40, 41). İspanya'daki yenidoğan taramasında GA1 sıklığı 1:49.402 olarak saptanmıştır (42). Tayvan'ın yenidoğan tarama verilerine göre ise GA1 106.474 yenidoğanda bir görülmüştür (43). Türkiye'de ulusal yenidoğan

taramasına GA1 dahil edilmemiştir. Ülkemizde tek bir merkezde yapılan bir çalışmada makrosefali, nöromotor gerilik, nöbet, hipotoni gibi şikayetlerle değerlendirilip GA1 tanısı alan 41 hasta olduğu, bu hastaların ulusal yenidoğan tarama programında GA1 yer almadığı için geç tanı aldıkları ve bu nedenle GA1'in ulusal yenidoğan tarama programına dahil edilmesi gerektiği öne sürülmüştür (44). 2020 yılında yayınlanan, Türkiye'de doğan 17.066 bebeğin kan MS/MS analizinin retrospektif olarak incelendiği bir çalışmada, GA1 tanısı alan hasta olmamıştır (45).

2.2.4. Tedavi

Günümüzde GA1 tedavi edilebilir bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Metabolik idame tedavisi, diyet ve ilaç tedavilerinden oluşur. Toksik organik asitlerin öncüllerinin alımını azaltmak için lizin ve triptofandan, dolayısıyla proteinden fakir bir diyet verilir. Bu diyetin karşılayamadığı amino asit gereksinimi lizin içermeyen, triptofandan fakir, arjininden zengin bir yapay amino asit karışımı (tıbbi mama, metabolik mama) ile sağlanır. Tedavideki en önemli ilaç oral L-karnitin takviyesidir; GCDH enziminin kofaktörü olan FAD'ın düzeyleri arttırmak için sıklıkla verilen riboflavin (vitamin B₂) tedavisinin etkinliği tartışmalıdır. Araya giren hastalıklar veya cerrahi gibi katabolik dönemler için yoğunlaştırılmış acil tedavi önerilir. Bu tedavide lizin alımının kısa bir süre için daha da azaltılması, protein yıkımını yavaşlatmak için damar içi yolla glukoz ve gerekirse lipid ile enerji desteği sağlanması, L-karnitin dozunun arttırılması, mümkünse damar içi yolla verilmesi esastır. Kılavuz önerilerine göre uygulandığında, bu kombine metabolik tedavi, akut ensefalopatik krizlerin ve hareket bozukluğu sıklığını önemli ölçüde azaltmış ve erken teşhis edilen bireylerde hastalığın asemptomatik seyretme olasılığını artırmıştır (29). Bu, yakın zamanda 647 hastayla dünya çapında yapılan bir meta-analizde gösterilmiştir (46). Diyet tedavisinin, ciddi şekilde etkilenen hastalar dışındaki tüm hastalarda erken yetişkinliğe kadar normal antropometrik gelişime izin verecek şekilde güvenli olduğu gösterilmiştir. Varsa epilepsi, gelişme geriliği, hareket bozukluğu, yutma bozukluğu gibi ikincil durumların destek tedavileri de hastaların yaşam kalitesi için önem taşır (47).

2.3. Kronik Böbrek Hastalığı

2.3.1. Kronik Böbrek Hastalığının Genel Özellikleri

Kronik böbrek hastalığı (KBH), böbreklerin hasar gördüğü ve kanı olması gerektiği gibi filtreleyemediği bir durumdur. Bu durum geri dönüşümsüzdür ve son evre böbrek yetmezliğine kadar ilerleyebilir. Böbrekte 3 aydan uzun süredir patolojik, laboratuvar veya görüntüleme ile gösterilen yapısal ya da işlevsel bozukluk olması ya da glomerüler filtrasyon hızının ("*glomerular filtration rate*," GFR) 3 aydan uzun süredir 60 mL/dk/1,73 m² altında olmasıdır (48). Çocuklarda yapılan araştırmalarda hastalığın prevalansı her 1 milyon çocukta 74,7 olarak gösterilmiştir (49).

Kronik böbrek hastalığı genellikle asemptomatiktir ve rutin kan ve idrar tetkikleri ile saptanabilir. Daha nadiren hastalar belirgin hematüri, köpüklü idrar, noktüri, yan ağrısı veya idrar çıkışında azalma gibi semptomlarla başvurabilirler. Kronik böbrek hastalığı ilerlemişse hastalarda yorgunluk, iştahsızlık, bulantı, kusma, metalik tat, istemsiz kilo kaybı, kaşıntı, bilinç değişiklikleri, nefes darlığı veya periferik ödem görülebilir (50).

Kronik böbrek hastalığına bağlı olarak sıvı ve elektrolit bozuklukları, kemik ve mineral bozuklukları, anemi, hipertansiyon, dislipidemi, büyüme geriliği, malnütrisyon, endokrin anormallikler, nörogelişimsel bozukluklar, üremi gibi komplikasyonlar görülebilir (51).

Çocuklarda kronik böbrek hastalığının değerlendirildiği, 586 katılımcının olduğu, çok merkezli prospektif bir çalışmada, hastaların %38'sinde anemi, %16'sında büyüme geriliği, %14'ünde sistolik hipertansiyon ve %13'ünde diyastolik hipertansiyon saptanmıştır (52).

Hipertansiyon, erişkin popülasyonun yaklaşık %30'unda görülür. Kronik böbrek hastalığı olanlarda ise bu oran %90'a kadar çıkmaktadır. Hipertansiyon, KBH'nin hem nedeni hem de sonucudur. Böbrek işlevlerinin azalması ile birlikte, afferent sinyallerin neden olduğu sempatik tonus artışı, KBH'de hipertansiyon gelişimine katkıda bulunur. GFR azaldıkça, tuz ve su tutulmasına neden olan renin-angiotensin-aldosteron sistemi aktive olur. Bu da hipertansiyon gelişimine sebebiyet verir. Endotel disfonksiyonu ileri evre KBH'nin karakteristik bir özelliğidir ve hipertansiyonla ilişkisi bilinmektedir (53).

Böbrek fonksiyonunu en iyi gösteren parametre GFR'dir. Böbreklerin boşaltım işlevini yansıtır. Glomerüler kapillerdeki ultrafiltrasyon basıncı, kapiller geçirgenlik ve kapiller yüzey alanı GFR'yi etkiler. Bunlardaki değişiklikler, GFR'de de değişim olarak sonuçlanır (49).

Glomerüler filtrasyon hızını ölçmenin en yaygın yöntemi, klirens kavramına dayanmaktadır. X maddesinin klirensi; $C_x = U_x \times V / P_x$ şeklinde hesaplanır. Bu formülde; İdrar miktarı V, X maddesinin idrardaki konsantrasyonu U_x , plazmadaki konsantrasyonu ise P_x olarak gösterilmiştir. Klirensin birimi mL/dk'dır. X maddesi glomerüllerden serbestçe filtreleniyorsa, tübüllerden salgılanmıyorsa ve böbrekte sentezlenmiyor veya metabolize edilmiyorsa, X maddesinin klirensi GFR'ye eşittir.

Kreatinin klirensi, GFR hesaplamada kullanılan en eski ve en yaygın yöntemdir. Ölçüm için; 24 saatlik idrar toplanarak hacminin ve kreatinin derişiminin ölçülmesi, serum kreatinin değeri gereklidir. Bulunan değeri her 1,73 m² vücut yüzey alanına düşen GFR cinsinden yorumlanır.

Kreatinin glomerüllerde filtrelenir ve proksimal tübülden salgılanır. Tübüler sekresyonu sağlıklı bireylerde ihmal edilebilecek düzeydedir, ancak ileri evre KBH olan hastalarda görece daha yüksek olabilir ve GFR'nin hatalı olarak daha yüksek ölçülmesine yol açabilir (54). Kreatinin, en çok iskelet kaslarında bulunan bir enerji kaynağı olan kreatin fosfatın bir türevi olduğundan, serum kreatinin düzeyleri kas kütesinden etkilenir. Daha az kas kütesine sahip kişilerde (küçük çocuklar, yaşlılar, kadınlar, malnütre hastalar gibi) kreatinin düzeyleri düşüktür ve bu da onların böbrek fonksiyonlarının gerçekte olduğundan daha iyi imiş gibi değerlendirilmesine yol açabilir (55).

Sistatin C, sistein proteaz inhibitörleri grubundan bir proteindir. Glomerüllerde filtre edilir, tübüllerden salgılanmaz, ancak proksimal tübüllerde tamamen geri emilir ve parçalanır. Bu nedenle yeniden kan akımına geçmez ve GFR ölçümünde ideal bir endojen belirteçtir (49). Sistatin C, kreatininin aksine; yaş, cinsiyet, kas kitlesi, inflamatuvar süreçler ve diyetten etkilenmez (56).

Böbrek ultrasonografisi (US), KBH değerlendirmesinde yardımcı araçlardan biridir. KBH'de böbrek boyutlarında azalma beklenir. Parankim kalınlığı azalmıştır. Böbreklerde ekjenite artışı da böbrek hastalığının önemli bir belirtisidir ve kronik böbrek yetmezliğinde görülmesi muhtemeldir. Ayrıca böbreklerin Doppler US ile

değerlendirilmesi mikrovasküler ve parankimal lezyonlar hakkında ek bilgi sağlayabilir (57, 58).

2.3.2. Glomerüler ve Tübüler İşlevler

Böbrekler, nefronlardan oluşur. Her nefron ise glomerül ve tübülden oluşmaktadır. Glomerüler ve tübüler hasara bağlı olarak böbrek işlevlerinde bozukluk görülebilir.

Glomerüler hastalıklar çocuklardaki böbrek hastalıklarının önemli bir nedenidir. Bu bozukluklar dünya çapında KBH olan çocukların %5-14'ünü ve son evre böbrek yetmezliği olan çocukların %15-29'unu oluşturmaktadır. Glomerüler hastalıkta nefronun kanı filtreleyen kısmı işlevini tam olarak yerine getiremez. Sonuç olarak kan ve protein gibi idrarda olmaması gereken maddeler görülebilir. Bu hastalıklarda çay rengi idrar, proteinüri, albuminüri, artmış kreatinin düzeyleri, artmış kan basıncı, ödem gibi belirti ve bulgular görülebilir.

Glomerüler hasar ile seyreden 3 klasik klinik sendrom vardır: hematüri, hipertansiyon ve akut böbrek hasarı üçlüsüyle tanımlanan akut ve kronik glomerülonefrit; proteinüri ve hipoalbuminemi ile tanımlanan nefrotik sendrom ve mikroanjiyopatik hemolitik anemi, trombositopeni ve akut böbrek hasarı ile tanımlanan hemolitik üremik sendrom.

Glomerülonefritte glomerüler proliferasyon ve inflamasyon, glomerüler perfüzyonun azalmasına neden olur. Bu da böbrek işlevinin bozulması ile tuz ve suyun tutulmasına ve buna bağlı olarak hipertansiyon ve ödem gelişimine neden olur. Nefrotik sendromda, inflamasyon ve proliferasyon görülmeksizin glomerüler hasar meydana gelir. Glomerüler kapiller halkaların geçirgenliğindeki artış, proteinüri, hipoalbuminemi, azalmış plazma onkotik basıncı ve ödem gibi klasik klinik özelliklere yol açan bir dizi olayı tetikler. Ancak nefrotik sendrom birçok durumda glomerülonefrite ikincil olarak da ortaya çıkabilir (59, 60).

Böbrek tübüleri proksimal tübül, Henle kulpu, distal tübül ve toplayıcı kanal olmak üzere 4 bölümden oluşur (Şekil 2.2).

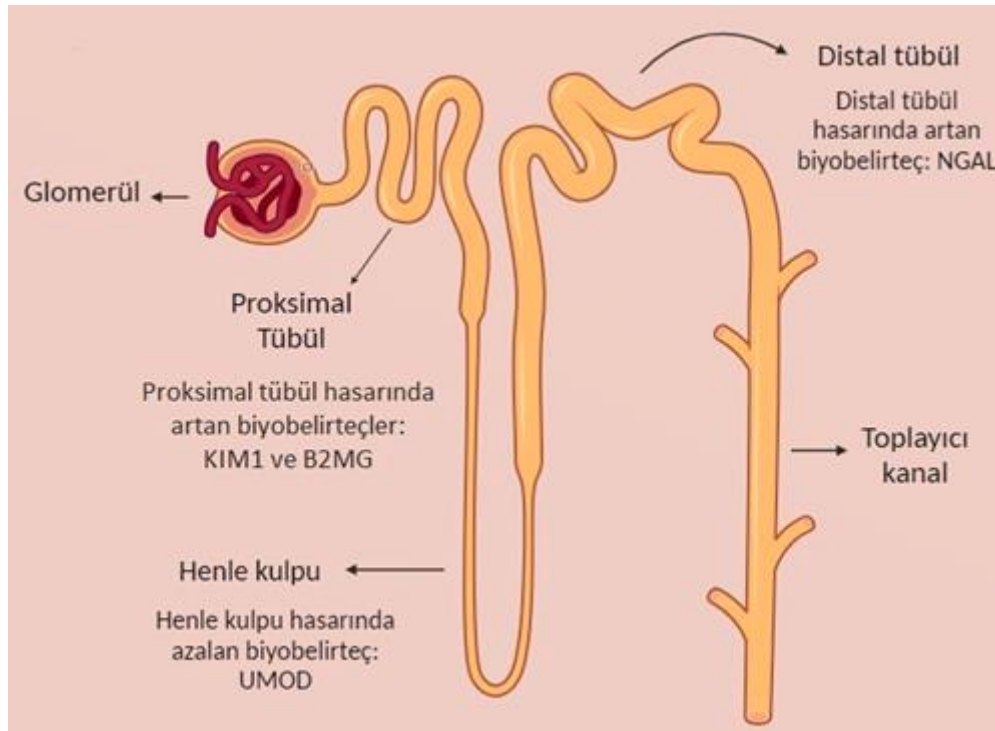
Proksimal tübül reabsorpsiyonun (geri emilim) en fazla gerçekleştiği yerdir. Glukoz, proteinler, amino asitler, elektrolitlerin büyük bir kısmı ve su gibi temel maddelerin yeniden emiliminin burada gerçekleşir. Proksimal tübül ayrıca hidrojen,

amonyak ve potasyum gibi iyonları sekrete eder ve bikarbonatı reabsorbe eder. Böylece vücut sıvılarının elektrolit ve asit-baz dengesini korur.

Henle kulpu inen ve çıkan koldan oluşmaktadır. Bu kollar farklı geçirgenlik gösterir. İnen kol suya karşı geçirgendir ancak elektrolitleri geçirmez; çıkan kol ise elektrolitlere karşı geçirgendir ancak suyu geçirmez. Elektrolitler Henle'nin çıkan kulpunda yeniden emildiğinden, filtrat çıkan kola doğru ilerledikçe seyreltilir. Ancak bu segmentte yeniden emilim sınırlıdır.

Distal tübül, tıpkı proksimal tübül gibi, süzüntüden bikarbonatı yeniden emerken, süzüntüye hidrojen, potasyum ve amonyak gibi iyonları salgılar. Bu tübülde sodyum iyonlarının ve suyun yeniden emilimi gerçekleşir. Böylece hücrelerdeki pH ve sodyum-potasyum dengesi korunur.

Toplayıcı kanal, kanın elektrolit dengesini korumak için hidrojen ve potasyum iyonlarının salgılandığı tüptür. Aynı zamanda derişik idrar üretmek için suyun maksimum yeniden emiliminin gerçekleştiği bölgedir (61, 62).



Şekil 2.2. Nefron yapısı ve tübüllere özgü biyobelirteçler

Distal tübül, tıpkı proksimal tübül gibi, süzüntüden bikarbonatı yeniden emerken, süzüntüye hidrojen, potasyum ve amonyak gibi iyonları salgılar. Bu tübülde

sodyum iyonlarının ve suyun yeniden emilimi gerçekleşir. Böylece hücrelerdeki pH ve sodyum-potasyum dengesi korunur.

Toplayıcı kanal, kanın elektrolit dengesini korumak için hidrojen ve potasyum iyonlarının salgılandığı tüptür. Aynı zamanda derişik idrar üretmek için suyun maksimum yeniden emiliminin gerçekleştiği bölgedir (61, 62).

Yukarıda sayılan bu tübüler mekanizmalardaki herhangi bir bozukluk tübülopatiye yol açar. Tübüler disfonksiyon çocuklarda ve genç erişkinlerde klinik olarak çok farklı şekillerde görülebilir. Poliüri, polidipsi, huzursuzluk, büyüme geriliği, nefrokalsinozis ve kan basıncı değışiklikleri başlıca görülen özelliklerdir.

Tübülopati değlendirmesi için venöz kan gazı, biyokimyasal tetkikler ve idrar analizi yapılmalıdır. İdrar tetkikinde protein/kreatinin oranı ve kalsiyum/kreatinin oranına bakılmalıdır. Proksimal tübülopati şüphesi varsa beta-2 mikroglobulin de bakılmalıdır. Eğer bu tetkikler sonucunda tübülopati düşünülüyorsa, fraksiyone sodyum atılımı ("*fractional excretion of Na,*" FeNa) ve tübüler fosfat reabsorpsiyonu ("*tubular reabsorption of phosphate,*" TRP) bakılmalıdır. Bu incelemeler spot idrarda yapılabilir; ancak mümkünse 24 saatlik idrar toplanarak da değlendirilebilir. Böbrek ultrasonografisinde nefrolitiyazis, nefrokalsinozis, hidronefroz ve böbreğin konjenital anomalileri saptanabilir (63).

Beta-2 mikroglobulin (B2MG) neredeyse tüm çekirdekli hücrelerin yüzey zarında bulunan küçük bir proteindir. Diğer düşük moleköl ağırlıklı proteinler gibi proksimal tübüllerde yeniden emilir. Bu nedenle idrardaki artışı tübüler disfonksiyonu düşündürür (64).

Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1), böbrek hasarına yanıt olarak proksimal tübüler hücreler tarafından eksprese edilen bir transmembran glikoproteindir ve apoptotik hücrelerin temizlenmesinde işlev görür (65, 66). Hayvan modellerinde KIM-1'in histolojik tübüler hasarın şiddeti ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (67). KIM-1'in insanlarda akut iskemik böbrek hasarında erken bir biyobelirteç olduğunu gösteren birçok çalışma vardır (68). İdrardaki KIM-1 düzeyi böbrek hasarı ile ilişkilidir ve son evre böbrek hastalığına ilerlemede yol gösterici olabilir (69).

Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL, lipokalin-1), insanlarda prostat, tükürük bezleri, mide, kolon, trakea, akciğerler, karaciğer ve böbrek gibi birçok dokuda üretilen bir proteindir. İdrardaki NGAL, temel olarak tübüllerde çıkan

kalın koldan ve toplayıcı kanallardan kaynaklanır. NGAL, hayvan modellerinde böbrek hastalığının ilerlemesinin potansiyel bir belirteci olarak gözlemlenmiştir (70). İdrarda NGAL yükselmesi, proksimal tübüllerdeki fonksiyon bozukluğu veya hasar nedeniyle filtre edilmiş NGAL'in azalmış emilimini ve/veya kalın çıkan kol ve toplayıcı kanallardan artan NGAL salınımını yansıtabilir (69).

Uromodulin (UMOD), Tamm-Horsfall proteini olarak da bilinir, Henle kulpunun çıkan kalın kolunda lokalize olan renal tübüler epitel hücreleri tarafından eksprese edilir ve sağlıklı bireylerin idrarında en bol bulunan proteindir. Hem plazma hem de 24 saatlik idrar UMOD düzeylerinin, Henle kulpundaki sağlam tübüler hücrelerin ve dolayısıyla nefron kütesinin doğrudan belirteçleri olduğu gösterilmiştir. Ek olarak idrardaki UMOD seviyesi akut böbrek hasarında azalır (66).

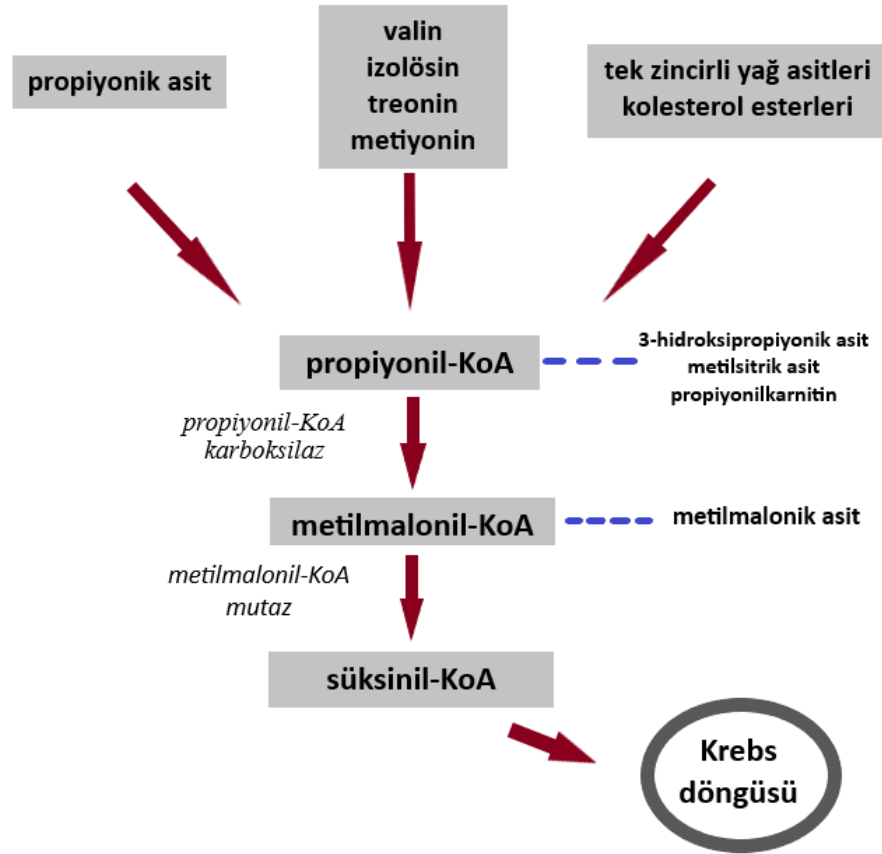
2.4. Dallı Zincirli Organik Asidemilerde Kronik Böbrek Hastalığı

Dallı zincirli organik asidemiler, dallı zincirli amino asitlerin (lösin, izolösin, valin) katabolizmasında görevli özgül enzimlerin bozukluklarından kaynaklanan bir grup hastalıktır. Akçaağaç şurubu idrar hastalığı, izovalerik asidemi, propiyonik asidemi ve metilmalonik asidemi en sık karşılaşılan organik asidürilerdir. Bu dört bozukluğun en ağır formları, yenidoğan döneminde intoksikasyon tipinde akut bir ensefalopatiye, tedavi edilmezse ölüme yol açar (71).

Metilmalonik asidemi (MMA) ve propiyonik asidemi (PA), propiyonat katabolizmasının otozomal resesif bozukluklarıdır. MMA'da metilmalonil-KoA mutaz enzimindeki, PA'da ise propiyonil-KoA karboksilaz enzimindeki kusurlar bu hastalıklara neden olur. MMA ve PA; 3-hidroksipropiyonik asit, metilsitrik asit ve/veya metilmalonik asit gibi dallı zincirli amino asit katabolizmasının ara metabolitlerinin plazma, idrar ve diğer vücut sıvılarında birikmesi ile karakterizedir (Şekil 2.3) (72).

MMA ve PA'nın yenidoğan döneminde başlayan klasik formunda belirtiler yaşamın ilk günlerinde genel klinik durumun ani kötüleşmesi, emmeme, kusma, dehidratasyon, kilo kaybı, ısı dengesizliği, letarji, koma ve nöbet şeklinde görülebilir. Başvuru anında laboratuvar bulguları metabolik asidoz, ketozis, yüksek anyon açığı ve hiperamonemiye içermektedir. Bu metabolik krizler ilerleyen yaşlarda

enfeksiyonlar, diğer katabolik olaylar, aşırı protein alımı ve bazı ilaçlarla tetiklenebilir (72, 73).



Şekil 2.3. Propiyonat metabolizmasının şematik özeti

Yenidoğan döneminden sonra MMA ve PA semptomları oldukça değişkenlik gösterebilir. Sinir sistemi, gastrointestinal sistem, bağışıklık sistemi, pankreas, göz, kalp (çoğunlukla PA'da) ve böbrek (çoğunlukla MMA'da) gibi farklı organ sistemleri zamanla etkilenebilir. Yaygın spesifik olmayan belirtiler arasında ensefalopati, koma, gelişme geriliği, hareket bozuklukları, kas hipotonisi, epilepsi, nöropsikiyatrik semptomlar, kardiyomiyopati, uzamış QT aralığı (yalnızca PA'da) ve ilerleyici KBH yer alır (72).

Kronik böbrek hastalığı, ağır tipteki MMA hastalarında (*mut⁰*, *cb1B*) sıklıkla ortaya çıkar. Kronik süreçte geliştiği için MMA hastalarının sağkalımının artması, yaşam sürelerinin uzaması ile birlikte daha yaygın görülmektedir (74). On yaşın

üzerinde MMA tanılı hastalarda KBH daha sık görülür. Hastalığın seyri genellikle yavaştır, ancak son dönem böbrek yetmezliği gelişebilir ve birçok hastada 20'li yaşların sonuna doğru diyaliz ve böbrek naklinin gerekli olması muhtemeldir (75).

Organik asidemi ve üre döngüsü bozukluğu olan hastaların, *European Registry and Network for Intoxication Type Metabolic Diseases* (E-IMD) veritabanı kullanılarak değerlendirildiği bir çalışmada örnek grubundaki MMA tanılı 149 hasta incelendiğinde MMA tanılı çocuk ve adolesanların %24'ünün kreatinin klirensi 60 mL/dakika'nın altında olarak bulunmuş ve erişkin MMA hastalarının %29'unda KBH saptanmıştır. Kronik böbrek hastalığı, PA tanılı hastaların az bir kısmında tespit edilmiştir (6). Ancak PA'da böbrek yetmezliği vaka bazlı olarak görülse de organ transplantasyonu gerektirecek kadar şiddetli olabilir (76). Yaşları 3 gün ile 43,7 yıl arasında değişen 273 MMA tanılı hastanın dahil edildiği başka bir çalışmada ise, hastaların %28'inde KBH saptanmış, bu hastaların ortalama yaşı 6,8 yaş olarak görülmüştür. (77)

Metilmalonik asidemi tanılı bütün bireylerde, hastalığın seyri hafif bile olsa, KBH gelişme riski mevcuttur (78). Bu hastalarda hemodiyaliz gerektiren son evre böbrek yetmezliği ve böbrek nakli ihtiyacı olabileceği için böbrek işlevleri dikkatli bir şekilde izlenmelidir (77). Metilmalonik asidemi ve propiyonik asidemi tanı ve tedavi kılavuzlarında GFR ölçümlerinde kas kitlesinden bağımsız olması ve bu yönüyle kreatinininden üstün olması nedeniyle sistatin C kullanımı önerilmektedir. Böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesi kapsamında düzenli kan basıncı izleminin de yapılması gerekmektedir (79).

Metilmalonik asidemide görülen KBH ile ilgili 2 ana patoloji saptanmıştır: Kronik tübülointerstisyel nefrit ve renal tübüler asidoz (72). Mononükleer hücre infiltrasyonlu kronik interstisyel nefritin böbrek biyopsisinde interstisyel fibrozis ve tübüler atrofi gösterilmiştir (80). Başka çalışmalar, MMA'nın renal patolojisinin, elektron taşıma zinciri disfonksiyonu ile uyumlu olarak proksimal tübüllerde megamitokondri oluşumu ile karakterize olduğunu göstermiştir (7, 8). Bu nedenlerle mitokondriyal bozukluğun böbrek yetmezliğinin patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığı düşünülmüştür (81). Başka bir çalışmada ise böbrek büyümesini yansıtan böbrek uzunluğunun; MMA hastalarında, kontrollerle karşılaştırıldığında zamanla önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir. Bu hasta popülasyonunda sistatin C ve serum

metilmalonik asit konsantrasyonlarının, daha küçük böbrekler ve azalmış böbrek fonksiyonu ile ilişkili olduğu saptanmıştır (82).

MMA fare modellerinde ve hastalarda yapılan çalışmalar, NGAL ile oksidatif stres ve proksimal tübüler mitokondriyal fonksiyon bozukluğu belirteçleri arasında güçlü korelasyon olduğunu göstermiştir. Fare modelinde, NGAL antioksidan tedaviye yanıtı değerlendirmek için kreatinin veya serum MMA konsantrasyonlarına kıyasla erken ve daha duyarlı bir belirteç olarak görülmüştür. Bu nedenle, MMA'da böbrek hasarı izleminde NGAL'in ek bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür (8, 83).

2.5. Glutarik Asidüri Tip 1 ve Böbrek Hasarı

Yakın geçmişe kadar GA1, izole “serebral” bir organik asidemi olarak kabul edilmiş olup nörolojik sekellere bağlı komplikasyonların (malnütrisyon, kronik solunum yetmezliği vb.) dışında birincil bir organ tutulumu bildirilmemiştir. Böbrek tutulumu daha önce GA1'in fenotipik spektrumunun bir parçası olarak düşünülmemiştir. Bununla birlikte, literatürde GA1'in akut ve kronik böbrek tutulumu ile ilgili hayvan modelleri, olgu bildirimleri ve derlemeler son yıllarda ortaya çıkmıştır. Glutarik asidüri tip 1 tanılı 150 hastanın E-IMD verilerinin Kölker ve arkadaşları tarafından değerlendirildiği 2015 tarihli çalışmada, 20 yaşın üzerindeki GA1'li yetişkinlerin %20-25'inde KBH olduğu gösterilmiştir. Yapılan Kaplan-Meier analizi, GA1'de yaşla birlikte kronik böbrek yetmezliği sıklığında orta derecede bir artış olduğunu ortaya çıkarmıştır (6). Erken tanılı hastalarda yaşamın ilk altı yılı içerisinde idame diyet tedavisi önerilerine uyulmaması uzun dönemde böbrek işlevlerinde daha belirgin bozulma ile ilişkili bulunmuştur (84).

3-hidroksiglutarik asit, GA1 hastalarının dokularında ve vücut sıvılarında birikerek toksik etkilere aracılık eden bir metabolittir. 3-hidroksiglutarik asit varlığında endotel hücrelerinin işlevsel özellikleri, damar yapıları ve endotel bariyerlerinin bütünlüğü bozulur. Keyser ve arkadaşlarının 3-hidroksiglutarik asit doku dağılımını ve atılımını izlemek için ³H etiketli 3-hidroksiglutarik asit kullandığı bir fare modelinde böbrekteki proksimal tübül hücrelerinde sodyum bağımlı dikarboksilat ko-transporter 3'ün; glutarik asit, 3-hidroksiglutarik asit ve organik anyon taşıyıcıları 1 ve 4'ün translokasyonuna aracılık ettiği gösterilmiştir. Sodyum

bağımlı dikarboksilat ko-transporter 3'ün ekspresyonu, *Gcdh*^{-/-} farelerin böbreklerinde artmıştır (9, 10). Başka bir GA1 fare modelinde indüklenen metabolik krizler sırasında akut renal proksimal tübül değişiklikleri incelenmiştir: *Gcdh*^{-/-} farelerde, metabolik krizler sırasında sodyum bağımlı dikarboksilat ko-transporter 3 ve organik anyon taşıyıcılarının renal ekspresyon modelinin değiştiği ve hücre içi glutarik asit ve 3-hidroksiglutarik asit birikimine yol açtığı görülmüş; mitokondriyal büyüme ve düşük molekül ağırlıklı proteinlerin artmış atılımı, işlevsel bir tübülopatiyi düşündürmüştür. Bu nedenle GA1 hastalarında, özellikle akut krizler sırasında böbrek fonksiyonunun dikkatli bir şekilde değerlendirilmesi önerilmiştir (11).

Olgu bildirimleri ele alındığında, Pöge ve arkadaşları nöbet geçirme sonrası 10 haftalıkken GA1 tanısı alan bir hastadan bahsetmişlerdir. Hastada yaşamın 12. haftası itibariyle ciddi ödem gelişmiş ve diüretik tedavisine rağmen nefrotik sendromun tüm belirtileri (proteinüri, hipoalbuminemi, hiperlipidemi) ortaya çıkmış, böbrek ultrasonografisinde korteks-medulla ayrımının güçleştiği bilateral hipertrofik ve hiperekojenik böbrekler görülmüştür. 19 haftalıkken yapılan böbrek biyopsisinde glomerüler hasar, kresentik glomerülonefrit ve normal tübüler morfoloji saptanmış, hasta yaşamının 22. haftasında son dönem böbrek yetmezliğinden ölmüştür. Tablonun GA1 ile nedensellik ilişkisi kesin kurulamasa da bu olasılığın farkında olmak gerektiği belirtilmiştir (85). Başka bir olgu sunumunda GA1 hastası olduğu bilinen 6 yaşındaki erkek çocuğun ishali takiben şiddetli akut böbrek hasarı ve hemolitik üremik sendrom nedeniyle diyaliz tedavisi aldığı bildirilmiştir. Benzer şekilde bu olguda da renal işlev bozukluğuna GA1'in yol açtığı ya da katkıda bulunduğu net değildir (86). Du Moulin ve arkadaşları yenidoğan taraması ile tanı konulan, asemptomatik izlenen, 3 yaş 3 aylıkken invaziv pnömokok hastalığının neden olduğu atipik hemolitik üremik sendrom tanısı alan, izleminde kreatinin ve kan üre azotu yüksekliği ile akut böbrek yetmezliği hasarı, böbrek ultrasonunda iki taraflı şişlik, kortikal hiperekojenite ve subkortikal hipoperfüzyon görülen, biyokimyasal tetkiklerinde tübüler ve glomerüler proteinüri saptanan bir hasta bildirmişlerdir. Bu olgu ve literatürdeki diğer çalışmaları göz önünde bulundurarak, GA1'deki böbrek hastalığının patofizyolojisi ile ilgili çeşitli hipotezler ortaya atılmışlardır. Hastalığın metabolitlerine bağlı olarak bozulan endotel bütünlüğünün, GA1 hastalarını hemolitik üremik sendroma özgü mikroanjiyopatiye yatkın kılabilceği düşünülmüştür. Ayrıca böbrek proksimal tübül hücrelerinin

glutarik asit ve 3-hidroksiglutarik asite kronik maruz kalımının tübüler hasara ve sonrasında kronik böbrek hastalığına neden olabileceği öne sürülmüştür. Renal proksimal tübül hücrelerinin GA1 ile ilişkili böbrek hastalığının gelişimindeki potansiyel rolü, özellikle proksimal tübül hücrelerinde yüksek renal GCDH ekspresyonuna ilişkin son gözlemlerle uyumlu bulunmuştur. Glutarik asidüri tip 1 hastalarında böbrek işlevinde olası bir bozulmayı mümkün olduğu kadar erken tespit etmek için glomerüler ve tübüler fonksiyonların dikkatle izlenmesinin önemi vurgulanmıştır (87, 88).

Bunlarla birlikte GA1 hastalarında böbrek işlevlerine yönelik temel incelemeler rutin hasta izlemi önerilerinin arasına girmiştir. Son kılavuzlarda 6 yaşın üzerindeki GA1 hastalarında böbrek işlevlerinin değerlendirilmesi için yılda bir kez kreatinin, sistatin C ve GFR bakılması önerilmiştir (89).

2.6. Amaç

Bu tez çalışmasında GA1 tanılı hastalarda böbrek işlevlerini biyokimyasal, fizyolojik ve radyolojik yöntemlerle inceleyerek GA1'deki böbrek tutulumunun özelliklerinin ve bu hastalarda kronik böbrek hastalığı ile ilişkili parametrelerin ortaya konması amaçlanmıştır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Metabolizma ve Çocuk Nefroloji Bilim Dalları, Radyoloji Anabilim Dalı ve Hacettepe Üniversitesi Merkez Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 2022/10-01 sayılı kararı ile 07.06.2022 tarihinde onaylanmıştır (Bkz. EK-1). Katılımcılardan, katılımcıların yaş ya da zihinsel durum gibi nedenlerle aydınlatılmış onam verememeleri durumunda ailelerinden yazılı aydınlatılmış onam alınmıştır. Aydınlatılmış onam formları çalışma grubu ve kontrol grubu için ayrı olarak hazırlanmıştır. Araştırma, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje no: THD-2022-20261).

3.1. Bireylerin Dahil Edilme Ölçütleri

Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi Çocuk Metabolizma Polikliniğinde izlenen, GA1 tanısı almış olan çocuk ve erişkin hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Hastalar rutin poliklinik kontrollerine geldiklerinde çalışmaya katılmaya davet edilmişlerdir.

Çalışma grubu dahil etme kriterleri:

- Glutarik asidüri tip 1 tanısı almış olmak (klinik, radyolojik ve biyokimyasal belirti ve bulgular; varsa genetik inceleme ile)
- Aydınlatılmış onam vermek

Çalışma grubu dışlama kriterleri:

- Akut bir hastalık geçiriyor olmak
- Son 3 ayda nefrotoksik ilaç kullanmış ya da herhangi bir idrar yolu rahatsızlığı geçirmiş olmak

Araştırmaya ayrıca kontrol grubu olarak GA1 tanılı her hastanın yaş ve cinsiyetine karşılık gelecek şekilde ikişer sağlıklı birey alınmıştır. Bu katılımcılar, kronik hastalıklar, nefrotoksik ilaç kullanım öyküsü ve üriner sistem şikayetleri açısından sorgulanmış, herhangi bir sorunu olmayan katılımcılardan; tam idrar tetkiki, spot idrarda kreatinin, protein, albümin ve B2MG bakılmıştır. Sonuçlarında herhangi

bir patolojik bulgu olmayan katılımcılar, kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edilmişlerdir.

Kontrol grubu dışlama kriterleri:

- Herhangi bir akut ya da kronik rahatsızlığı olması
- Nefrotoksik ilaç kullanmış ya da herhangi bir idrar yolu rahatsızlığı geçirmiş olması
- Bakılan spot idrarda protein, spot idrarda kreatinin, spot idrarda albümin, spot idrarda B2MG veya tam idrar tetkikinin herhangi birinde anormallik olması

3.2. Araştırma protokolü

Glutarik asidüri tip 1 tanılı hastalar rutin poliklinik kontrollerine geldiklerinde hastalar ve aileleri çalışma hakkında bilgilendirilerek aydınlatılmış onam alınmıştır. Tanı süreci, tıbbi geçmişleri ve almakta oldukları tedavilere ait bilgiler hasta dosyalarından ve öyküden elde edilmiştir. Tam bir fizik muayene yapılmıştır. Boy ölçümleri; iki yaşın altındakilerde yatarak, iki yaşın üzerindeki ise ayakta yapılmıştır. İki yaşın üzerinde olan ancak ayakta duramayan hastaların boy ölçümleri yatarak yapılmıştır. Vücut kitle endeksi (VKİ) $18,5 \text{ kg/m}^2$ 'nin altında olan erişkin hastalar ve VKİ z skoru -2'nin altında olan çocuk hastalar malnütre olarak kabul edilmiştir. Ağır zihinsel yetersizliği olan, kontraktürleri bulunan ve desteksiz yürüyemeyen hastalar ağır nörolojik etkilenmiş, diğer hastalar ise hafif nörolojik etkilenmiş olarak değerlendirilmiştir. En az 20 dk istirahat sonrası oturur pozisyonda, oturamayan hastalarda yatar pozisyonda kol boyuna uygun bir manşon ile ofis kan basıncı ölçümü yapılmış, çocuklarda sistolik ve diyastolik kan basıncı persentilleri cinsiyet, yaş ve boya göre değerlendirilmiştir (90, 91). Hastalardan aynı muayene sırasında 3 ölçüm yapılmış, ortalama verileri değerlendirilmiştir. Erişkin hastalarda normal tansiyon sistolik kan basıncı <120 ve diyastolik kan basıncı <80 mm Hg, yükselmiş tansiyon sistolik 120-129 ve diyastolik <80 mm Hg, evre 1 hipertansiyon (HT) sistolik 130-139 veya diyastolik 80-89 mm Hg, evre 2 hipertansiyon ise sistolik ≥ 140 veya diyastolik ≥ 90 mm Hg olarak değerlendirilmiştir (92). Çocuk hastalarda ise, 13 yaşın altında olanlarda; kan basıncının 90 persentilin altında olması normal tansiyon, ≥ 90 persentil ile <95 persentil arası veya 120/80 mm Hg' ile <95 persentil arası (hangisi daha düşükse) yükselmiş tansiyon, ≥ 95 persentil ile <95 persentil + 12

mm Hg veya 130/80 ile 139/89 mm Hg arası (hangisi daha düşükse) evre 1 HT ve ≥ 95 persentil + 12 mmHg veya $\geq 140/90$ mmHg (hangisi daha düşükse) evre 2 HT olarak değerlendirilmiş olup 13 yaşın üzerindeki çocuklarda erişkin evrelendirmesi kullanılmıştır (93). Rutin kontroller için kan ve idrar örnekleri alındığı sırada araştırma için gereken örnekler de alınmıştır. Dosya incelemesi, öykü, fizik muayene, rutin izlem kapsamındaki ve araştırma amaçlı laboratuvar incelemelerinin tümünü içeren veri toplama formu EK-2’de sunulmuştur.

Serum sistatin C düzeyi için serum ayrılarak -20°C ’de en fazla 3 ay saklanmış, numunelerin toplanması bittikten sonra serum sistatin C düzeyi ölçümleri yapılmıştır. Serum kreatinin ve serum sistatin C düzeyleri kullanılarak, tahmini glomerüler filtrasyon hızı (*estimated glomerular filtration rate*, eGFR) mL/dk/1,73 m² cinsinden hesaplanmıştır.

Erişkin ve çocuk yaş grubundaki hastaların kreatinine göre eGFR’leri sırasıyla ‘CKD-EPI Kreatinin Formülü 2021’ (Formül 3.1) ve ‘Yatakbaşı Schwartz formülü 2009’ (Formül 3.2) ile hesaplanmıştır (94, 95).

$$\text{eGFR} = 142 \times \min(\text{Scr}/\kappa, 1)^{\alpha} \times \max(\text{Scr}/\kappa, 1)^{-1.200} \times 0.9938^{\text{yaş}} \times 1.012^* \quad (3.1)$$

*Scr = mg/dL cinsinden standartlaştırılmış serum kreatinin, $\kappa = 0,7$ (kadın) veya $0,9$ (erkek), $\alpha = -0,241$ (kadın) veya $-0,302$ (erkek), $\min(\text{Scr}/\kappa, 1)$ Scr/κ veya $1,0$ ’ın minimumu, $\max(\text{Scr}/\kappa, 1)$ Scr/κ veya $1,0$ ’ın maksimumudur, yaş: yıl olarak, *eğer kadınsa.*

$$\text{eGFR} = 0.413 \times [\text{boy (cm)} / \text{serum kreatinin (mg/dL)}] \quad (3.2)$$

Erişkin ve çocuk yaş grubundaki hastaların sistatin C’ye göre eGFR’leri sırasıyla ‘CKD-EPI Sistatin C Formülü 2012’ (Formül 3.3) ve ‘Sistatin C Tabanlı Formül 2012’ (Formül 3.4) ile hesaplanmıştır (96, 97).

$$\text{eGFR} = 133 \times \min(\text{Scys}/0.8, 1)^{-0.499} \times \max(\text{Scys}/0.8, 1)^{-1.328} \times 0.996^{\text{yaş}} \times 0.932^* \quad (3.3)$$

*Scys (standartlaştırılmış serum sistatin C) = mg/L, $\min = \text{Scys}/0,8$ veya 1 ’in minimumu, $\max = \text{Scys}/0,8$ veya 1 ’in maksimumu, yaş : yıl olarak, *eğer kadınsa*

$$\text{eGFR} = 70.69 \times (\text{Sistatin C, mg/L})^{-0.931} \quad (3.4)$$

Erişkin ve çocuk yaş grubundaki hastaların hem kreatinin hem de sistatin C değerleri kullanılarak eGFR'leri sırasıyla 'CKD-EPI Kreatinin-Sistatin Formülü 2021' (Formül 3.5) 'Kreatinin-Sistatin C Bazlı CKID Formülü 2012' (Formül 3.6) ile hesaplanmıştır (96, 97).

$$eGFR = 135 \times \min (Scr/\kappa, 1)^{\alpha} \times \max (Scr/\kappa, 1)^{-0.544} \times \min (Scys/0.8, 1)^{-0.323} \times \max (Scys/0.8, 1)^{-0.778} \times 0.9961^{yaş} \times 0.963^{*} \quad (3.5)$$

*Scr = mg/dL cinsinden standartlaştırılmış serum kreatinin, $\kappa = 0,7$ (kadın) veya $0,9$ (erkek), $\alpha = -0,219$ (kadın) veya $-0,144$ (erkek), $\min(Scr/\kappa, 1)$ Scr/κ veya $1,0$ 'ın minimumu, $\max(Scr/\kappa, 1)$ Scr/κ veya $1,0$ 'ın maksimumu, $Scys = mg/L$ cinsinden standartlaştırılmış serum sistatin C, Yaş: yıl olarak, *eğer kadınsa*

$$eGFR = 39.8 \times [boy/Scr]^{0.456} \times [1.8/cysC]^{0.418} \times [30/BUN]^{0.079} \times [1.076^{erkek}] [1.00^{kadın}] \times [ht/1.4]^{0.179} \quad (3.6)$$

BUN (kan üre azotu) = mg/dL, cysC (sistatin C) = mg/L, boy = metre olarak, Scr (standartlaştırılmış serum kreatinin) = mg/L

Böbrek hasarı; sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'de azalma (< 90 mL/dk/1,73 m²) veya aşıkâr ya da mikroalbüminüri (idrâr albümin > 30 mg/g kreatinin) bulunması olarak tanımlanmış ve KBH sınıflandırması uyarınca Evre 1: böbrek hasarı varlığında normal ya da artmış eGFR (≥ 90 mL/dk/1,73 m²), Evre 2: böbrek hasarı varlığında hafif azalmış eGFR (60-89 mL/dk/1,73 m²), Evre 3: orta şiddette azalmış eGFR (30-59 mL/dk/1,73 m²), Evre 4: ağır şiddette azalmış eGFR (15-29 mL/dk/1,73 m²), Evre 5: böbrek yetmezliği (< 15 mL/dk/1,73 m²) olarak evrelendirilmiştir (98).

Rutin kontrol için alınan spot idrar numunesi, spot idrarda araştırma kapsamında yapılacak incelemeler için de kullanılmıştır. Hastaların ve kontrollerin spot idrar numunesinden tübüler hasar belirteçleri olan KIM1, UMOD ve NGAL düzeyleri, ELISA yöntemi ile Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri Merkez Laboratuvarlarında (Tecan Plate Washer ve Tecan Infinite F50 Plate Reader, Avusturya) ELISA plakalarının (Cloud-Clone Corp. SEA785Hu, SEB388Hu, SEG918Hu) üreticilerinin önerdiği protokoller uyarınca (Bkz. EK-3) ölçülmüş ve spot idrar kreatinin düzeyine göre normalize edilmiştir. Her numune aynı plaka üzerinde duplike çalışılmış, analiz için iki ölçümün ortalaması kullanılmıştır.

Diğer biyokimyasal ölçümler T.C. Sağlık Bakanlığı tarafından onaylanmış klinik laboratuvarlarda standart yöntemlerle yapılmıştır.

Üriner sistem ultrasonografisi ve renal Doppler ultrasonografi çocuk radyolojisi alanında deneyimli bir radyoloji uzmanı tarafından çekilmiştir (Philips, Affiniti 70G Ultrasound System, Hollanda). Hastaların böbrek uzunluk persentilleri; yaşları 0-19 arasında değişen, böbrek hastalığı olmayan ve eGFR'si normal olan 1.758 kişilik çalışmanın verilerine göre değerlendirilmiştir (99).

Uyum sağlayabilen hastalardan 24 saatlik ambulator kan basıncı izlemi yapılmıştır (SpaceLabs ABPM, Model no: 90207-30). Bu hastaların tümünün 18 yaşın üzerinde olması nedeniyle uyanıklık ve uyku periyotlarına ait hipertansiyon sınırları erişkin yaş grubuna göre alınmıştır. Eşik değerler uyanık periyotlarda sistolik ve diyastolik kan basıncı için 130 ve 80 mmHg; uyku periyotlarında sistolik ve diyastolik kan basıncı için 110 ve 65 mmHg; genel olarak ise sistolik ve diyastolik kan basıncı için 125 ve 75 mmHg olarak alınmıştır.

3.3 İstatistiksel Yöntemler

Elde edilen sayısal verilerin normal dağılımları histogramlar ile görsel, Shapiro-Wilk testi ile analitik olarak değerlendirilmiş, merkezi eğilim ölçüleri normal dağılan değişkenler için ortalama $\pm$ standart sapma, normal dağılmayan değişkenler için ise ortanca (birinci ve üçüncü çeyreklik; Q1-Q3) cinsinden sunulmuştur; niteliksel veriler sayı ve yüzdeler ile ifade edilmiştir.

Gruplar arasında (böbrek hasarı olan - olmayan, eGFR 90 mL/dk/1,73m² altı-üstü) niteliksel verilerin sıklığının karşılaştırılması için test koşullarına göre ki-kare ya da Fisher kesin testi, sayısal verilerin karşılaştırılması için grupların her birinde 10'dan az hasta bulunduğu Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Farklı formüller ile hesaplanan eGFR değerlerinin ikişer ikişer birbirleri ile uyumu, ölçümler arasındaki farkların tek örneklem t-testi ve Bland-Altman eğrisi ile incelenmiştir. Çalışma kapsamında elde edilen sayısal değişkenler arasında korelasyon analizi, ikisi de normal dağılan değişkenler arasında Pearson (r), diğerleri için Spearman (ρ) korelasyon katsayısı kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) olan güçlü ($0,6 \leq |r|$ veya $\rho < 0,8$) ve çok güçlü ($0,8 \leq |r|$ veya $\rho < 1,0$) korelasyonlar sunulmuştur.

İstatistiksel olarak anlamlı, orta dereceli korelasyonlar ($0,4 \leq |r \text{ veya } \rho| < 0,6$) EK-4’te belirtilmiştir.

Tip 1 hata payı %5 olarak alınmıştır (istatistiksel anlamlılık sınırı, $P < 0,05$).

4. BULGULAR

4.1. Hastaların Tanı Süreçleri, Öykü ve Muayene Bulguları

Dahil edilme ölçütlerini karşılayan 16 hasta çalışmaya alınmıştır. Hastaların 7'si (%44) erkek, 9'u (%56) ise kadındır. Hastaların en küçüğü 5 aylık, en büyüğü ise 24 yaşındadır; 4 hasta 18 yaşın üzerinde, 12 hasta ise 18 yaşın altındadır. Ortanca yaş 13,2 (9,44-19,16) yıl olarak hesaplanmıştır. Hastaların tanı aldıkları yaş 1 ay ile 10 yıl 10 ay arasında değişmektedir. Ortanca tanı yaşı 1,03 (0,47-2,82) yıldır. Hastaların yarısı (n=8) yaşamın ilk bir yılında tanı almıştır. Hastaların 8'i ilk akut ensefalopatik kriz sonrasında tanı alırken 2'si ikinci kriz sonrası tanı almıştır. Altı hasta herhangi bir akut ensefalopatik kriz geçirmeden tanı alabilmiştir. Bu hastalardan ikisi ailede GA1 tanısı olan birey olması, ikisi gelişim geriliği, biri makrosefali biri ise distonik hareketleri nedeniyle araştırılırken GA1 tanısı almıştır. Üç hasta, hayatının herhangi bir döneminde kriz geçirmemiştir. Altı hastada tanıdan sonra kriz görülmemiştir. Tanı öncesi kriz geçirip tanı sonrasında geçirmeyen hasta sayısı 3'tür. Toplamda en fazla 5 akut ensefalopatik kriz geçiren hasta çalışmada değerlendirilmiştir (Tablo 4.1). İdrarda glutarik asit atılımına göre hastaların 14'ü "*high excretor*", 2'si "*low excretor*" olarak sınıflandırılmıştır. "*High excretor*" fenotipindeki hastaların birinde tanı sırasındaki glutarik asit düzeyi kayıtlı bilgilerde bulunamadığı için çalışma sırasında ölçülen değere göre biyokimyasal fenotip sınıflaması yapılmıştır. Hastaların biyokimyasal GA1 fenotipleri ve tanısal biyobelirteçlerinin tanı esnasındaki ve çalışma sırasındaki düzeyleri Tablo 4.2'de verilmiştir.

Hastalara ait genetik analizler Tablo 4.3'te verilmiştir. Çalışmadaki 16 hastanın *GCDH* geninin Sanger dizi analizi yapılmış olup tümünde daha biallelik patojenik değişiklik saptanmıştır. On altı hastada 11 farklı genotip, toplam 32 allelde 13 farklı genetik değişiklik izlenmiştir; bunlardan üçü daha önce bildirilmemiş değişikliklerdir [c.980C>T (p.Ala327Val), c.498_499del (p.Gln167Ala fs*20), c.1202 T>A (p.Ile401Asn)]. On üç genetik değişikliğin tümü nokta mutasyonu olup 11'i yanlış anlamlı, 1'i anlamsız, 1'i küçük delesyona bağlı çerçeve kayması değişikliğidir. En sık rastlanan değişiklik 11 allelde bulunan c.1204C>T (p.Arg402Trp) olup 5 hastada homozigot, 1 hastada heterozigot saptanmıştır.

Tablo 4.1. Tanı yaşları ve akut ensefalopatik kriz geçirme durumları

Hasta	Yaş	Cinsiyet	Tanı yaşı	Ensefalopatik kriz sayısı		
				Tanı öncesi	Tanı sonrası	Toplam
01	21 yıl	Erkek	9 ay	0	0	0
02	24 yıl	Erkek	10 yıl 7 ay	0	0	0
03	10 yıl 2 ay	Erkek	5 ay	1	3	4
04	14 yıl 9 ay	Kadın	6 ay	1	4	5
05	16 yıl 4 ay	Erkek	1 yıl 3 ay	2	2	4
06	17 yıl 7 ay	Kadın	1 ay	0	2	2
07	10 yıl 6 ay	Kadın	2 yıl 5 ay	1	3	4
08	11 yıl 7 ay	Erkek	1 yıl 7 ay	0	1	1
09	23 yıl	Kadın	2 yıl 11 ay	0	0	0
10	19 yıl	Erkek	10 yıl 10 ay	2	0	2
11	17 yıl 3 ay	Erkek	3 yıl 2 ay	1	0	1
12	5 ay	Kadın	3 ay	1	1	2
13	8 yıl 10 ay	Kadın	8 ay	1	2	3
14	11 yıl 6 ay	Kadın	2 yıl 2 ay	1	0	1
15	4 yıl 5 ay	Kadın	9 ay	1	1	2
16	9 yıl 2 ay	Kadın	1 ay	0	3	3

Tablo 4.2. Glutarik asidüri tip 1 tanısı için kullanılan biyobelirteçlerin tanı sırasındaki ve çalışma yapıldığı sıradaki düzeyleri

Hasta	Tanı esnasındaki düzeyler				Çalışma sırasındaki düzeyler				GA1 fenotipi
	C0	C5DC	GA	3-OH-GA	C0	C5DC	GA	3-OH-GA	
01	22,2	1,0	21	1	40,5	3,1	131	1,6	HE
02	3,1	0,5	31	1,5	47,6	4,2	83,5	0	HE
03	6,7	1,4	15	1	42,3	2,2	51,9	0	HE
04	7,7	2,0	50	1	58,9	2,7	9	0	HE
05	4,5	0,9	76,7	2,6	76,0	2,9	19,3	0	HE
06	3,4	0,6	4,1	1	50,6	2,8	10,4	0	HE
07	17,0	0,8	0,7	1	27,7	0,4	0	0	LE
08	6,1	1,2	artmış	0	68,7	6,9	88,8	1,5	HE
09	-	0,8	20,3	-	51,6	3,9	15,4	0,3	HE
10	9,8	1,6	1,5	-	41,0	1,9	0	0,8	HE
11	4,1	0,8	42	0,5	13,9	3,3	35,1	0,5	HE
12	17,8	0,8	0,7	0	83,3	0,8	0	0	LE
13	4,5	1,0	22	1,5	53,9	1,1	21,9	0,7	HE
14	34,6	2,0	50	3	36,2	2,9	28,8	1,3	HE
15	39,3	3,1	75	1,9	36,4	6,3	7,5	0	HE
16	17,1	2,4	16	0,7	3,2	1,5	97,4	1,1	HE

C0 ve C5DC kuru kanda ölçülmüştür ($\mu\text{mol/L}$; ardışık kütle spektrometresi). GA ve 3-OH-GA idrarda ölçülmüştür (iç standardın [130 mmol/mol kre] katı, gaz kromatografisi – kütle spektrometresi). 3-OH-GA: 3-hidroksiglutarik asit, C0: serbest karnitin, C5DC: glutarilkarnitin, GA: glutarik asit, GA1: glutarik asidüri tip 1, HE: *high excretor*, LE: *low excretor*.

Tablo 4.3. *GCDH* geni dizi analizi sonuçları

Hasta	
01	c.1093G>A (p.Glu365Lys) homozigot
02	c.1093G>A (p.Glu365Lys) homozigot
03	c.383G>A (p.Arg128Gln) homozigot
04	c.1204C>T (p.Arg402Trp) homozigot
05	c.1204C>T (p.Arg402Trp) homozigot
06	c.743C>T (p.Pro248Leu) homozigot
07	c.169G>A (p.Glu57Lys) / c.382C>T (p.Arg128*) birleşik heterozigot
08	c.1204C>T (p.Arg402Trp) homozigot
09	c.1204C>T (p.Arg402Trp) homozigot
10	c.1044C>A (p.His348Gln) homozigot
11	c.349G>A (p.Gly117Arg) / c.1204C>T (p.Arg402Trp) birleşik heterozigot
12	c.221A>G (p.Tyr74Cys) / c.980C>T (p.Ala327Val) birleşik heterozigot
13	c.498_499del (p.Gln167Alafs*20) homozigot
14	c.1018C>T (p.Leu340Phe) homozigot
15	c.1202T>A (p.Ile401Asn) homozigot
16	c.1204C>T (p.Arg402Trp) homozigot

Genetik değişiklikler NM_000159.4 referans dizisine göre isimlendirilmiştir.

Beyin manyetik rezonans görüntüleme (MRG) sonuçları 16 hastanın 12'sinde mevcuttur. Bazı hastalara birden çok kez görüntüleme yapılmıştır. Bu durumda en son yapılan beyin MRG'nin bulguları değerlendirilmiştir. Hastaların MRG tetkikleri yapıldığındaki ortalama yaşları 2,18 (0,65-6,23) yıldır. En sık görülen beyin MRG bulgusu striatum tutulumu ile frontotemporal bölgede serebral atrofidir (veya bu bölgede ekstraksiyel beyin omurilik sıvısı alanında genişleme; n=8, %66,7). Saptanan diğer beyin MRG bulguları Tablo 4.4'te verilmiştir.

Tablo 4.4. Beyin manyetik rezonans görüntüleme bulguları (N=12)

Bulgu	Sayı (yüzde)
Frontotemporal atrofi	8 (%66,7)
Striatum tutulumu	8 (%66,7)
Myelinizasyon gecikmesi	4 (%33,3)
Globus pallidus tutulumu	6 (%50)
Subdural kanama	2 (%17)

Eşlik eden nörolojik bulgular ele alındığında hastaların yarısından fazlasında (9/16) görülen epilepsi ilk sıradadır. Hastaların 6'sında aksiyel distoni, 7'sinde ekstremitte distonisi, 6'sında aksiyel hipotoni, 6'sında ekstremitte hipertoni ve 6'sında kontraktürler görülmüştür. Üç hastada epilepsi, aksiyel distoni, ekstremitte distonisi, aksiyel hipotoni, ekstremitte hipertoni ve kontraktürlerin hepsi birlikte bulunmaktadır. Herhangi bir nörolojik bulgusu olmayan hasta sayısı 5'tir (%31). Hastaların 13'ü baş kontrolünü sağlayabilmekte, 9'u ise desteksiz oturup yürüyebilmektedir. Altı hastada zihinsel yetersizlik yokken, hastaların 7'sinde ağır zihinsel yetersizlik mevcuttur. Hastaların nörolojik belirti ve bulguları Tablo 4.5'te, gelişim durumlarının özeti Tablo 4.6'da sunulmuştur.

Çalışmadaki 16 hastadan 15'i karnitin, 14'ü ise riboflavin kullanmakta idi. İlaçları kullananlarda karnitin dozu 30-119 mg/kg/gün, riboflavin dozu 100-200 mg/gün arasındadır. Altı hasta levitirasetam, 3 hasta klobazam, 5 hasta ise baklofen kullanmaktaydı. Bir hasta (Hasta #10) proteinüri nedeniyle anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörü (ramipril) kullanıyordu. Beş hasta karnitin veya riboflavin dışında herhangi bir başka ilaç kullanmıyordu. Hastaların aldıkları ilaç tedavileri Tablo 4.7'de verilmiştir.

Tablo 4.5. Nörolojik belirti ve bulgular

Hasta	Epilepsi	Aksiyel distoni	Ekstremitte distonisi	Aksiyel hipotoni	Ekstremitte hipertoni	Kontraktür	Makrosefali	Nörolojik etkilenme
01	-	-	-	-	-	-	+	Hafif
02	-	-	-	-	-	-	-	Hafif
03	+	+	+	-	+	+	-	Ağır
04	+	+	+	+	+	+	+	Ağır
05	+	+	+	+	+	+	+	Ağır
06	-	+	+	+	+	+	+	Ağır
07	+	+	-	+	+	+	+	Ağır
08	-	-	+	-	-	-	+	Hafif
09	-	-	-	-	-	-	+	Hafif
10	-	-	-	-	-	-	-	Hafif
11	-	-	-	-	-	-	-	Hafif
12	+	-	+	+	-	-	-	*
13	+	+	+	+	+	+	-	Ağır
14	+	-	-	-	-	-	+	Hafif
15	+	-	-	-	-	-	+	Hafif
16	+	-	-	-	-	-	+	Hafif

+ : var, - : yok, *değerlendirme yok

Tablo 4.6. Kaba motor ve bilişsel gelişim durumu

Hasta	Baş kontrolü	Desteksiz oturma	Desteksiz yürüme	Zihinsel yetersizlik	Nörolojik etkilene
01	+	+	+	Yok	Hafif
02	+	+	+	Yok	Hafif
03	-	-	-	Ağır	Ağır
04	+	-	-	Ağır	Ağır
05	+	-	-	Ağır	Ağır
06	+	-	-	Ağır	Ağır
07	+	-	-	Ağır	Ağır
08	+	+	+	Hafif	Hafif
09	+	+	+	Yok	Hafif
10	+	+	+	Yok	Hafif
11	+	+	+	Yok	Hafif
12	-	-	-	Ağır	*
13	-	-	-	Ağır	Ağır
14	+	+	+	Hafif	Hafif
15	+	+	+	Yok	Hafif
16	+	+	+	Hafif	Hafif

+ : var, - : yok, *değerlendirme yok

Tablo 4.7. Karnitin, riboflavin ve diğer ilaç kullanımları

Hasta	Karnitin kullanımı	Karnitin dozu (mg/kg/gün)	Riboflavin kullanımı	Riboflavin dozu (mg/gün)	Levetirasetam	Klobazam	Baklofen	Ramipril
01	+	33	+	100	-	-	-	-
02	+	37	-	-	-	-	-	-
03	+	111	+	150	+	-	+	-
04	+	102	+	200	-	-	+	-
05	+	78	+	200	-	+	+	-
06	+	50	+	200	-	-	+	-
07	+	63	+	100	-	+	+	-
08	+	45	+	100	-	-	-	-
09	+	71	+	200	-	-	-	-
10	+	30	+	100	-	-	-	+
11	+	33	+	200	-	-	-	-
12	+	119	+	100	+	+	-	-
13	+	80	+	200	+	-	-	-
14	+	65	+	100	+	-	-	-
15	+	65	+	100	+	-	-	-
16	-	-	-	-	+	-	-	-

+ : var, - : yok

Hastaların GA1'in diyet tedavisi için almakta oldukları protein miktarları Tablo 4.8'de verilmiştir. Alınan günlük doğal protein miktarı 0,56 g/kg ile 1,43 g/kg arasında değişmekteydi. Dört hastanın diyetinde herhangi bir yapay protein bulunmamaktaydı. Ortanca doğal protein alımı 0,83 (0,67-0,91), yapay protein alımı ise 0,45 (0,03-0,67) g/kg/gün olarak bulundu. Hastaların aldıkları günlük toplam protein miktarı 0,66-1,85 g/kg arasındaydı. Ortalama günlük alınan toplam protein miktarı ise $1,23 \pm 0,37$ g/kg'dı.

Tablo 4.8. Hastaların diyetle aldıkları günlük doğal, yapay ve toplam protein miktarları

Hasta	Doğal protein (g/kg)	Yapay protein (g/kg)	Toplam protein (g/kg)
01	0,56	0,10	0,66
02	0,84	0,00	0,84
03	0,65	0,83	1,48
04	0,57	0,68	1,25
05	0,58	0,70	1,28
06	0,93	0,62	1,55
07	1,29	0,56	1,85
08	0,83	0,14	0,97
09	0,85	0,21	1,06
10	0,83	0,00	0,83
11	0,85	0,00	0,85
12	1,43	0,42	1,85
13	0,80	0,80	1,60
14	0,81	0,47	1,28
15	0,74	0,60	1,34
16	1,00	0,00	1,00

Hastaların boy ve vücut ağırlığı ölçümleri ile ilişkili parametreler Tablo 4.9'da sunulmuştur. Hastaların antropometrik ölçümlerinde çocuk yaş grubundaki 12 hastanın yaşa göre vücut ağırlığı (YGVA), yaşa göre boy (YGB), vücut kitle endeksi (VKİ) ve bu değerlerin z skorlarına bakılmıştır. Değerlendirilen 12 çocuk hastanın vücut ağırlıklarına bakıldığında 11'inin YGVA z skorunun sıfırın altında, 6'sının YGVA z skorunun -2'nin altında olduğu görülmüştür. Hastaların vücut ağırlığı için z skorları -31,14 ile 0,79 arasındadır. Ortanca YGVA z skoru -2,9 (-6,63-(-0,51))'dur. Yaşa göre boy z skorları; 12 hastanın 11'inde sıfırın altında, 7'sinde ise -2'nin altındadır. Hastaların YGB z skorları -7,88 ile 2,35 arasında değişmektedir. Yaşa göre

boyların z skoru ortalaması $-2,72 \pm 3,08$ olarak bulunmuştur. Çocuk hastaların boya göre vücut ağırlıkları (BGVA) %71-126 arasında değişmektedir ve ortalama BGVA yüzdesi $88,75 \pm 17,33$ 'tür. VKİ z skorlarının ortalaması ise $-3,05 \pm 3,31$ 'dir. Dört erişkin hastanın VKİ'leri malnütrisyon açısından değerlendirildiğinde, 1 hastanın VKİ'sinin $18,5 \text{ kg/m}^2$ 'nin altında olduğu görülmüştür. Dört erişkin hastanın ortalama VKİ'si $20,3$ 'tür. Çocuk ve erişkin 16 hastanın hepsi birlikte değerlendirildiğinde VKİ ortalaması $15,98 \pm 4,06 \text{ kg/m}^2$ 'dir. Çocuk ve erişkin yaş gruplarına birlikte bakıldığında 16 hastanın yarısında malnütrisyon saptanmıştır ($n=8$).

Tablo 4.9. Hastaların antropometrik ölçümleri.

Hasta	Yaş	Boy (cm)	VA (kg)	YGVA (z skoru)	YGB (z skoru)	BGVA (%)	VKİ (kg/m ²)	VKİ z (z skoru)	Malnütrisyon
01	21 yıl	176,5	61,1	*	*	*	19,61	*	Yok
02	24 yıl	162	53,5	*	*	*	20,38	*	Yok
03	10 yıl 2 ay	121	18	-4,74	-2,84	80	12,29	-3,97	Var
04	14 yıl 9 ay	131	19,6	-10,74	-4,76	72	11,42	-6,68	Var
05	16 yıl 4 ay	138	25,6	-4,40	-7,88	82	13,44	-5,21	Var
06	17 yıl 7 ay	120	16	-31,14	-6,62	72	11,10	-9,89	Var
07	10 yıl 6 ay	112	16	-5,49	-4,37	83	12,76	-2,92	Var
08	11 yıl 7 ay	133	36	-0,37	-1,94	126	20,35	0,96	Yok
09	23 yıl	153,5	42,2	*	*	*	17,91	*	Var
10	19 yıl	168	66	*	*	*	23,30	*	Yok
11	17 yıl 3 ay	174	64,3	-0,12	-0,23	104	21,24	-0,07	Yok
12	5 ay	72	6,7	-0,92	2,35	78	12,92	-3,05	Var
13	8 yıl 10 ay	107	12,5	-7,01	-4,54	71	10,92	-5,23	Var
14	11 yıl 6 ay	140,5	30,8	-1,40	-1,02	88	15,60	-1,03	Yok
15	4 yıl 5 ay	100	15,5	0,79	1,36	100	15,50	0,23	Yok
16	9 yıl 2 ay	121	24,7	-1,09	-2,15	109	16,87	0,21	Yok

*: hesaplanmadı, BGVA: Boya göre vücut ağırlığı, VA: Vücut ağırlığı, VKİ: Vücut kitle endeksi, VKİ z: Vücut kitle endeksinin z skoru, YGB: Yaşa göre boy, YGVA: Yaşa göre vücut ağırlığı

Hastaların antropometrik ölçümleri ile korelasyon veren tetkikler Tablo 4.10'da belirtilmiştir. Yaşa göre vücut ağırlığı z skoru ile günlük yapay protein alımları, tanı sonrası ve toplam akut ensefalopatik atak sayıları arasında güçlü negatif korelasyon bulunmuştur. Yaşa göre boy z skoru ile tanı sonrası akut ensefalopatik atak sayıları ve günlük yapay protein alımları; BGVA yüzdesi ile günlük yapay ve toplam protein alımları; VKİ z skoru ile günlük yapay protein alımları arasında da güçlü negatif korelasyon saptanmıştır.

Tablo 4.10. Hastaların antropometrik ölçümleri ile ensefalopatik atakların ve protein alımlarının korelasyonları

Antropometrik ölçüm	Diğer	Korelasyon katsayısı	P değeri
Yaşa göre vücut ağırlığı z skoru	Tanı sonrası atak sayısı	-0,658 ^p	0,020
	Toplam atak sayısı	-0,605 ^p	0,037
	Yapay protein alımı (g/kg)	-0,634 ^p	0,027
Yaşa göre boy z skoru	Tanı sonrası atak sayısı	-0,641 ^p	0,025
	Yapay protein alımı (g/kg)	-0,620 ^p	0,032
Boya göre vücut ağırlığı yüzdesi	Yapay protein alımı (g/kg)	-0,737 ^p	0,006
	Toplam protein alımı (g/kg)	-0,711 ^r	0,010
Vücut kitle endeksi z skoru	Yapay protein alımı (g/kg)	-0,704 ^p	0,011

^p Spearman korelasyon katsayısı, ^r Pearson korelasyon katsayısı

On hastadan kan basıncı ölçümleri alınmıştır (Tablo 4.11). Altı hastadan, hasta uyumsuzluğu nedeniyle ölçüm yapılamamıştır. Erişkin yaş grubundaki 4 hastanın tamamından ölçüm yapılabilmektedir. Bu 4 hastanın sistolik ve diyastolik kan basıncı değerleri normal aralıkta bulunmuştur. Çocuk yaş grubunda ölçümleri alınabilen 6 hastanın sistolik basınç için persentil değerleri 11-74p arasında değişmektedir. Altı hastanın 4'ünün sistolik basınç persentilleri 10-50p arasında, 2'sinin ise 50-90p arasındadır. Diyastolik basınç için persentil değerleri 46-99p arasında değişmektedir. Altı hastanın 4'ünün diyastolik basınç persentilleri 50-90p arasında, 1'nin ise 10-50p arasındadır. Bir hastada evre 1 diyastolik hipertansiyon saptanmıştır (Hasta #08). Altı hastanın ortalama sistolik basınç persentili $44,5 \pm 25,8$ ve ortalama diyastolik basınç persentili ise $72,5 \pm 21,0$ 'dır.

Tablo 4.11. Hastaların ofis kan basıncı ölçümleri

Hasta	Sistolik basınç (mmHg)	Diyastolik basınç (mmHg)	Sistolik basınç (persentil)	Diyastolik basınç (persentil)	Sistolik basınç (evre)	Diyastolik basınç (evre)
01	110	65	*	*	HT yok	HT yok
02	105	65	*	*	HT yok	HT yok
03	100	70	73	89	HT yok	HT yok
08	105	85	74	99	HT yok	Evre 1 HT
09	103	77	*	*	HT yok	HT yok
10	123	76	*	*	HT yok	HT yok
11	110	70	24	57	HT yok	HT yok
14	90	60	11	46	HT yok	HT yok
15	90	60	49	84	HT yok	HT yok
16	90	60	36	60	HT yok	HT yok

*: hesaplanmadı, HT: Hipertansiyon

Hasta uyumsuzluğu ve doğru ölçüm yapılmasına engel olacak şiddette distoni nedeniyle çocuk yaş grubundaki hiçbir hastada 24 saatlik ambulator kan basıncı ölçümü yapılamamıştır. Erişkin yaş grubundaki 4 hastadan 24 saatlik ambulator kan basıncı ölçümleri yapılmıştır. Ölçüm sonuçları Tablo 4.12’de belirtilmiştir. Bir hastanın hem uyanık periyotlarda hem de uyku periyotlarında sistolik ve diyastolik kan basıncı değerleri sınırın üzerindedir (Hasta #01). Bu hastanın uyanık periyotlardaki kan basıncı yükü sistolik kan basıncı için %71, diyastolik kan basıncı için %57, uyku periyotlarındaki kan basıncı yükü ise sistolik kan basıncı için %93, diyastolik kan basıncı için %87 olarak saptanmıştır ayrıca dipping (çökme) değeri de %10’un altındadır (sistolik kan basıncı için %2,3 ve diyastolik kan basıncı için %4,9). Diğer hastaların kan basıncı ve çökme değerleri normal aralıktadır. Bu hastalardan biri ACE inhibitörü kullanmaktadır (Hasta #10).

Tablo 4.12. 24 saatlik ambulator kan basıncı değerleri

Hasta	Uyanık periyotlar		Uyku periyodu		Toplam	
	Sistolik basınç (mmHg)	Diyastolik basınç (mmHg)	Sistolik basınç (mmHg)	Diyastolik basınç (mmHg)	Sistolik basınç (mmHg)	Diyastolik basınç (mmHg)
01	132	82	129	78	132	81
02	123	75	106	56	119	71
09	114	77	97	55	109	71
10	127	76	107	60	122	71

4.2. Temel Laboratuvar İncelemeleri

Hastaların tam kan sayımlarında klinik olarak anlamlı bir anormallik saptanmamıştır (Tablo 4.13). Hemoglobin 11,3-15,8 g/dL aralığında ölçülmüştür. Ortalama hemoglobin $13,4 \pm 1,58$ g/dL'dir. Beyaz küre sayıları 5,08-16,43 $\times 10^3/\mu\text{L}$ aralığında değişmektedir. Beyaz küre ortalaması $8,86 \pm 2,96$ $\times 10^3/\mu\text{L}$ 'dir. Lenfosit sayıları 1,61-7,13 $\times 10^3/\mu\text{L}$ aralığında ölçülmüştür. Ortalama lenfosit sayısı $3,49 \pm 1,55$ $\times 10^3/\mu\text{L}$ 'tir. Nötrofil sayıları 2,16-10,84 $\times 10^3/\mu\text{L}$ aralığındadır. Nötrofil sayısı ortanca değeri ise 4,04 (3,52-5,07) $\times 10^3/\mu\text{L}$ 'dir. Hastaların trombosit düzeyleri 172 – 677 $\times 10^3/\mu\text{L}$ arasında değişmektedir. Trombosit düzeylerinin ortalaması $397,75 \pm 142,78$ $\times 10^3/\mu\text{L}$ olarak saptanmıştır. Bir hastanın trombosit sayısı 200 $\times 10^3/\mu\text{L}$ 'nin altında bulunurken, 5 hastanın trombosit düzeyleri 500 $\times 10^3/\mu\text{L}$ 'nin üzerindeydi. Trombosit düzeyi 100 $\times 10^3/\mu\text{L}$ 'nin altında olan hasta yoktu.

Hastaların serum biyokimyasında karaciğer işlev bozukluğunu düşündürecek klinik olarak anlamlı bulgu gözlenmemiştir (Bkz. Tablo 4.13). Alanin aminotransferaz (ALT) düzeyleri 7-41, aspartat aminotransferaz (AST) düzeyleri 11-50, alkalin fosfat (ALP) düzeyleri 59-316, gama glutamil transferaz (GGT) düzeyleri 9-85 U/L arasında değişmektedir. ALT ortanca düzeyi 15,0 (11,3-22,0) U/L olarak bulunmuştur. AST ve ALP ortalamaları sırasıyla $28,81 \pm 10,13$ ve $157,25 \pm 78,84$ U/L şeklindedir. GGT ortanca düzeyi 16 (13-18) U/L'dir. Direkt bilirubin düzeyleri 0,05-0,23 mg/dL, indirekt bilirubin düzeyleri ise 0,22-1,05 mg/dL arasındadır. Ortanca direkt bilirubin 0,11 (0,06-0,13) iken ortanca indirekt bilirubin 0,38 (0,27-0,52) mg/dL'dir.

Hastaların beslenme ile ilişkili laboratuvar incelemeleri Tablo 4.14'te belirtilmiştir. Serum vitamin B12 düzeyleri 122 ile 717 ng/L arasında değişmektedir. Üç hastanın vitamin B12 düzeyi 200 ng/L'nin altındadır, 5 hastada 500 ng/L'nin üzerindedir. Ortalama vitamin B12 düzeyi ise $355,5 \pm 186,4$ ng/L'dir. Ferritin düzeyleri 4,2 ile 184,3 $\mu\text{g/L}$ arasındadır. İki hastanın ferritin düzeyi 5 $\mu\text{g/L}$ 'nin altındadır. Ferritin ortanca düzeyi ise 33,8 (17,7-56,8) $\mu\text{g/L}$ 'dir. 25-OH vitamin D, 13 hastadan bakılabilmıştır ve 5,84 ile 44,73 $\mu\text{g/L}$ aralığında görülmüştür. 25-OH vitamin D, bir hastada 10 $\mu\text{g/L}$ 'nin altında, 9 hastada ise 25 $\mu\text{g/L}$ 'nin altında bulunmuştur. Ortalama 25-OH vitamin D $22,12 \pm 9,46$ olarak hesaplanmıştır. Hastaların prealbümin düzeyleri 11,9 ile 29,5 mg/dL arasındadır. 3 hastada prealbümin düzeyi 18 mg/dL'nin altındadır. Prealbümin ortalama düzeyi $21,39 \pm 4,8$ mg/dL'dir.

Tablo 4.13. Tam kan sayımı sonuçları ve karaciğer fonksiyon testleri

Hasta	Hb (g/dL)	WBC (x10 ³ /µL)	Lenfosit (x10 ³ /µL)	Nötrofil (x10 ³ /µL)	Trombosit (x10 ³ /µL)	ALT (U/L)	AST (U/L)	ALP (U/L)	GGT (U/L)	Direkt bilirubin (mg/dL)	İndirekt bilirubin (mg/dL)
01	15,2	6,89	2,12	4,17	292	35	35	67	18	0,23	0,96
02	14,9	5,67	1,61	3,53	172	41	33	82	19	0,11	0,53
03	13,4	7,18	3,79	2,91	380	39	33	163	85	0,05	0,22
04	13,6	7,58	2,27	4,58	458	10	23	141	16	0,07	0,27
05	14,2	9,30	3,34	4,87	517	12	21	280	16	0,12	0,45
06	12,3	10,31	4,93	3,91	510	21	36	166	9	0,07	0,29
07	11,3	13,36	6,17	6,29	490	22	45	155	15	0,11	0,37
08	14,2	8,94	3,01	5,10	527	16	28	235	19	0,06	0,26
09	13,8	5,08	1,91	2,74	299	7	16	59	18	0,14	0,49
10	15,9	6,55	2,03	3,74	208	22	19	82	14	0,12	0,49
11	15,8	8,55	2,77	5,09	279	10	11	98	17	0,10	0,39
12	11,1	11,98	7,13	3,51	677	19	50	211	13	0,09	0,32
13	11,7	16,43	4,04	10,84	553	14	31	88	18	0,06	0,26
14	12,5	7,65	3,09	3,67	275	11	29	316	12	0,22	1,05
15	11,4	7,48	4,38	2,16	428	13	27	234	10	0,14	0,62
16	13,1	8,87	3,31	5,00	299	12	24	139	13	0,06	0,28

ALT: Alanin aminotransferaz, ALP: Alkalen fosfataz, AST: aspartat aminotransferaz, GGT: Gama glutamil transferaz, Hb: Hemoglobin, WBC: Beyaz küre sayısı

Tablo 4.14. Beslenme ilişkili laboratuvar incelemeleri

Hasta	B12 vitamini (ng/L)	Ferritin (µg/L)	25-OH vitamin D (µg/L)	Prealbumin (mg/dL)
01	537	32,5	28,02	21,1
02	122	184,3	19,49	27,2
03	331	16,6	24,19	25,9
04	428	43,7	19,35	16,4
05	340	68,5	19,96	19,5
06	286	4,2	-	22,3
07	174	4,5	5,84	11,9
08	220	9,3	28,20	22,8
09	543	64,1	21,07	29,5
10	260	59,3	-	24,3
11	103	49,2	11,54	27,9
12	717	20,8	44,73	18,7
13	625	35,0	-	14,8
14	528	35,3	14,55	19
15	204	22,2	27,71	21,6
16	270	23,1	22,97	19,3

4.3. Böbrek İşlevleri

Hastaların serum elektrolit düzeylerinde klinik olarak önemli bir anormallik saptanmamıştır. Serum sodyum düzeyleri 139-145 mEq/L arasında değişmektedir. Ortalama serum sodyum düzeyi $141,3 \pm 1,4$ mEq/L'dir. Hastaların serum potasyum düzeyleri 3,3-5,5 mEq/L arasındadır. Üç hastanın potasyum düzeyleri 5 mEq/L ve üzerindedir. Ortalama serum potasyum düzeyi $4,4 \pm 0,54$ mEq/L'dir. Hastaların serum klor düzeyleri 102-109 mEq/L aralığında değişmektedir. Ortalama serum klor düzeyi $104,88 \pm 1,96$ mEq/L'dir. Hastaların serum total kalsiyum düzeyleri 9,38- 10,85 mg/dL arasında görülmüştür. Ortalama serum total kalsiyum düzeyi $10,06 \pm 0,38$ mg/dL'dir. Hastaların serum inorganik fosfor düzeyleri 3,01-5,82 mg/dL aralığındadır. Ortalama serum inorganik fosfor düzeyi $4,11 \pm 0,86$ mg/dL'dir. Hastaların serum magnezyum düzeyleri 1,87-2,48 mg/dL arasında değişmektedir. 3 hastanın serum magnezyum düzeyi 2 mg/dL'nin altındadır. Ortalama serum magnezyum düzeyi $2,20 \pm 0,20$ mg/dL olarak hesaplanmıştır. Serum elektrolit düzeyleri Tablo 4.15'te sunulmuştur.

Hastaların serum albümin, protein ve ürik asit düzeylerinde de klinik olarak anlamlı bir anormallik bulunmamıştır. Albümin düzeyleri 3,96-4,94 g/dL arasında

değişmektedir. Ortalama albümin düzeyi $4,50 \pm 0,29$ g/dL'dir. Serum protein düzeyleri $6,38 - 8,21$ g/dL arasında değişmektedir. Ortalama serum protein düzeyi $7,44 \pm 0,55$ g/dL'dir. Serum ürik asit düzeyleri $2,5-6,4$ mg/dL arasındadır. Ortanca ürik asit düzeyi $3,3$ ($2,98-4,20$) mg/dL'dir. Bu ölçümler de Tablo 4.15'te sunulmuştur.

Tablo 4.15. Serum elektrolit, albümin, protein, ürik asit düzeyleri

Hasta	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Mg (mg/dL)	Alb (g/dL)	Pro (g/dL)	ÜA (mg/dL)
01	140	4,0	103	10,35	3,72	2,25	4,81	8,20	4,3
02	140	3,3	102	9,38	3,37	2,21	4,70	7,57	3,9
03	141	4,5	103	9,81	3,18	2,31	4,56	7,96	2,8
04	142	4,5	104	10,18	3,01	2,21	4,39	7,80	3,2
05	141	4,7	105	10,29	3,74	2,47	4,32	7,41	3,9
06	141	5,5	105	9,93	4,98	2,26	4,30	7,38	3,2
07	141	4,7	106	10,21	4,79	2,44	4,40	7,85	2,7
08	141	3,7	103	10,56	3,99	2,09	4,94	8,21	3,2
09	142	4,1	104	9,5	3,34	1,89	4,81	7,75	3,3
10	142	4,4	106	10,14	3,02	1,87	4,69	7,12	5,1
11	143	4,3	104	10,31	3,67	1,89	4,88	7,60	6,4
12	142	5	107	10,85	5,22	2,18	4,20	6,38	5,6
13	145	5,1	106	9,99	4,41	2,48	3,96	6,69	3,4
14	139	4,4	103	9,95	4,94	2,13	4,33	7,31	2,5
15	141	4	109	9,68	5,82	2,44	4,13	6,51	3,3
16	140	4,3	108	9,85	4,51	2,07	4,61	7,26	2,9

Alb: Albümin, Pro: Protein, ÜA: Ürik asit

Hastaların venöz kan gazları değerlendirildiğinde; pH değerleri $7,24$ ile $7,45$ arasında bulunmuştur. Normal pH aralığı $7,35-7,45$ olarak alındığında; 10 hastanın pH'sı $7,35$ 'in altında, 6 hastanın pH değeri ise normal aralıktadır. Ortalama pH $7,33 \pm 0,05$ 'tir. Hastaların laktat düzeyleri $1,0-7,3$ mmol/L arasındadır. Ortalama laktat düzeyi $3,73 \pm 1,91$ mmol/L'dir. Hastaların bikarbonat düzeyleri $19,4$ ile $28,5$ mmol/L arasında değişmektedir. Ortalama bikarbonat düzeyi $22,7 \pm 2,4$ mmol/L'dir. Hastaların parsiyel karbondioksit düzeyleri $35,2-58,6$ mmHg aralığındadır. Parsiyel karbondioksit düzeylerinin ortalaması $49,5 \pm 6,8$ mmHg'dir. $pH < 7,35$ veya bikarbonat < 22 mmol/L olan hastaların tümünde laktat yüksekliği olduğu görülmüştür; bu hastaların tümü kan alımı sırasında ajitasyon ve distoni nedeniyle yoğun kas krampları olan hastalardır (Tablo 4.16).

Tablo 4.16. Venöz kan gazı parametreleri

Hasta	pH	Laktat (mmol/L)	Bikarbonat (mmol/L)	Parsiyel CO ₂ (mmHg)
01	7,37	1,3	25,2	48,2
02	7,34	3,3	24,0	51,3
03	7,27	7,3	19,4	52,3
04	7,31	4,6	23,6	56,7
05	7,33	5,8	22,5	49,0
06	7,27	4,8	21,5	55,8
07	7,32	3,7	20,5	45,9
08	7,26	5,4	20,6	55,3
09	7,38	2,0	25,3	47,2
10	7,33	2,1	23,3	53,2
11	7,30	3,4	22,9	57,1
12	7,38	5,0	20,9	35,2
13	7,24	6,1	19,7	58,6
14	7,37	2,0	23,4	44,0
15	7,35	1,9	21,2	39,7
16	7,45	1,0	28,5	41,9

Serum kreatinin, sistatin C ve BUN değerleri ve eGFR'ler Tablo 4.17'de sunulmuştur. Serum kreatinin düzeyleri 0,36-0,89 mg/dL arasında değişmektedir. Ortanca kreatinin düzeyi 0,44 (0,38-0,67) mg/dL'dir. Serum üre azotu düzeyleri 6,3 – 14,2 mg/dL arasındadır. Ortalama üre azotu 10,09±2,38 mg/dL'dir. Hastaların sistatin C düzeyleri 0,62 ile 1,27 mg/L aralığında bulunmuştur. Ortalama sistatin C düzeyi 0,82±0,17 mg/L'dir.

Kreatinine göre eGFR hesaplamak için çocuk ve erişkin hasta grubunda farklı formüller kullanılmıştır. Kreatinine göre eGFR değerleri 81 ve 153 mL/dk/1,73 m² arasındadır ve ortalama eGFR değeri 118,93±17,83 mL/dk/1,73 m² olarak hesaplanmıştır. Bu formüle göre iki hastanın eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altındadır.

Sistatin C ve kreatininin birlikte kullanılarak eGFR'nin hesaplandığı formüller çocuk ve erişkin hasta grupları için ayrı ayrı alınmıştır. Buna göre eGFR değerleri 60 ile 133 mL/dk/1,73 m² arasında değişmektedir. Ortalamaları 104,38±19,01 mL/dk/1,73 m²'dir. Bu formüle göre üç hastanın eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altındadır.

Sistatin C'ye göre eGFR hesaplamak için çocuk ve erişkin hasta grubunda farklı formüller kullanılmıştır. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'ler 57 ile 125 mL/dk/1,73 m² arasındadır. Ortalaması 95,25±20,52 mL/dk/1,73 m² olarak

bulunmuştur. Tahmini GFR'si 90 mL/dk/1.73 m²'nin altında olan hasta sayısı sekizdir ve bir hastanın eGFR'si 60 mL/dk/1.73 m²'nin altındadır; ancak bu hasta iki yaşın altında olup bu yaş grubu için sistatin C bazlı kabul görmüş bir eGFR hesaplama formülü olmadığı için aşağıda eGFR ilgili analizlere bu hasta dahil edilmemiştir. Sonuç olarak yedi hasta Evre 2 KBH, eGFR'si 90 mL/dk/1.73 m²'nin üzerinde olup mikroalbüminürisi olan bir hasta (Hasta #10) ise Evre 1 KBH olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 4.17. Serum kreatinin, sistatin C, kan üre azotu ve bunlar kullanılarak hesaplanan kreatinin klirensi ve glomerüler filtrasyon hızları

Hasta	Sistatin C (mg/L)	Kreatinin (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Kreatinine göre eGFR ^a	Kreatinin ve sistatin C'ye göre eGFR ^b	Sistatin C'ye göre eGFR ^c	Sistatin C'ye göre KBH evre
01	0,77	0,79	14,2	130	128	125	-
02	0,90	0,71	12,5	131	116	103	-
03	0,72	0,45	8,2	111	106	96	-
04	0,63	0,41	7,3	132	116	109	-
05	0,83	0,51	10,8	112	101	84	2
06	0,81	0,42	11,6	118	94	86	2
07	0,62	0,37	6,3	125	112	110	-
08	0,89	0,52	12	106	94	79	2
09	0,65	0,54	8,1	131	133	124	-
10	0,80	0,73	10,9	134	129	123	1
11	1,01	0,89	11,4	81	83	70	2
12	1,27	0,37	10,4	88	60	57*	*
13	0,63	0,39	6,4	113	105	109	-
14	0,86	0,38	8,2	153	109	81	2
15	0,91	0,36	10,6	115	87	78	2
16	0,78	0,41	12,6	122	96	89	2

BUN: Kan üre azotu, eGFR: tahmini glomerüler filtrasyon hızı, eGFR birimleri mL/dk/1.73 m²'dir.

^a: Erişkin yaş grubundaki hastaların kreatinine göre eGFR'leri, 'CKD-EPI kreatinin formülü (2021)' ile çocuk yaş grubundaki hastaların kreatinine göre eGFR'leri 'yatakbaşı Schwartz formülü (2009)' ile;

^b: Erişkin yaş grubundaki hastaların sistatin C'ye göre eGFR'leri, 'CKD-EPI sistatin C formülü (2012)' ile, çocuk yaş grubundaki hastaların sistatin C'ye göre eGFR'leri, 'sistatin C tabanlı formül (2012)' ile;

^c: Erişkin yaş grubundaki hastaların hem kreatinin hem de sistatin C değerleri kullanılarak eGFR'leri 'CKD-EPI kreatinin-sistatin formülü (2021)' ile, çocuk yaş grubundaki hastaların hem kreatinin hem de sistatin C değerleri kullanılarak eGFR'leri 'kreatinin-sistatin C bazlı CKID formülü (2012)' ile hesaplanmıştır. *Yaş nedeniyle geçersiz.

Serum kreatinin, BUN ve sistatin C tetkiklerinin korelasyon analizleri Tablo 4.18’de verilmiştir. Serum kreatinin düzeyleri ile başvuru yaşları çok güçlü; VKİ, albümin, prealbümin ise güçlü pozitif koreledir. Serum kreatinin düzeyleri ile total protein alımları arasında çok güçlü, serum fosfor düzeyleri arasında ise güçlü negatif korelasyon vardır. BUN düzeyleri ile idrarda GA atılımı arasında güçlü pozitif, yapay ve toplam protein alımları arasında ise güçlü negatif korelasyon saptanmıştır. Sistatin C ile YGB z skoru arasında güçlü pozitif korelasyon vardır.

Tablo 4.18. Serum kreatinin, üre azotu ve sistatin C ile diğer tetkiklerin korelasyon analizleri

Serum tetkikleri	Diğer	Korelasyon katsayısı	P değeri
Kreatinin (mg/dL)	Başvuru yaşı	0,813 ^p	<0,001
	Toplam protein alımı (g/kg)	-0,823 ^p	<0,001
	Vücut kitle indeksi (kg/m ²)	0,672 ^p	0,004
	Serum fosfor (mg/dL)	-0,685 ^p	0,003
	Serum albümin (g/dL)	0,786 ^p	<0,001
	Prealbümin (mg/dL)	0,719 ^p	0,002
BUN (mg/dL)	Yapay protein alımı (g/kg)	-0,636 ^p	0,008
	Toplam protein alımı (g/kg)	-0,642 ^r	0,007
	İdrarda GA atılımı	0,602 ^p	0,014
Sistatin C (mg/L)	Yaşa göre boy z skoru	0,684 ^r	0,014

^p Spearman korelasyon katsayısı, ^r Pearson korelasyon katsayısı, BUN: Kan üre azotu, GA: Glutarik asit

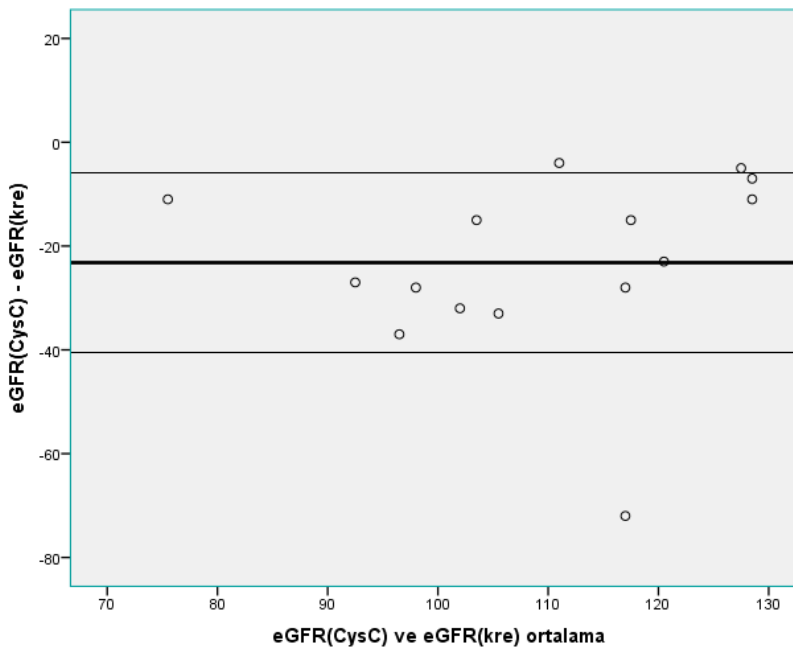
Çalışmaya alınan 16 hastadan 2 yaşın altında olan tek hasta hariç 15’i için tek serum örneğindeki ölçümler kullanılarak eGFR hesaplandı. Serum kreatinin kullanılarak – eGFR(kre) - , serum sistatin C kullanılarak – eGFR(CysC) – ve her ikisi birden kullanılarak – eGFR(kre+CysC) – mL/dk/1.73 m² cinsinden hesaplanan değerlerin uyumu analiz edildi. Üç ölçümün de birbiri ile uyumlu olmadığı (fark ortalamaları $\neq 0$; tek örneklem t testinde $p<0,001$) görüldü (Tablo 4.19).

Tablo 4.19. Farklı formüllere ait eGFR hesaplamalarının karşılaştırılması (N=15)

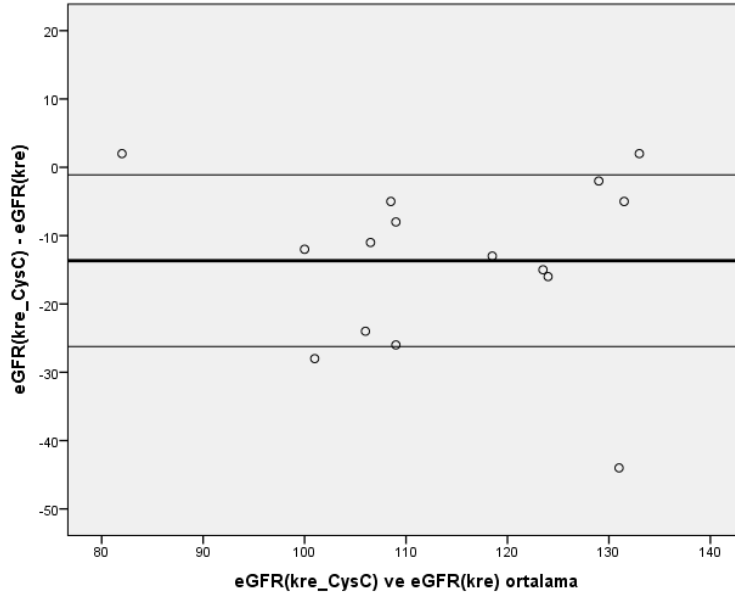
Farkları alınan hesaplamalar	Ölçüm farklarının ortalama±standart sapması (mL/dk/1.73m ²)	P
eGFR(CysC) - eGFR(kreatinin)	-23,20±17,32	<0,001
eGFR(kre+CysC) - eGFR(kre)	-13,67±12,57	<0,001
eGFR(CysC) - eGFR(kre+CysC)	-9,53±7,38	<0,001

Tek örneklem t testi

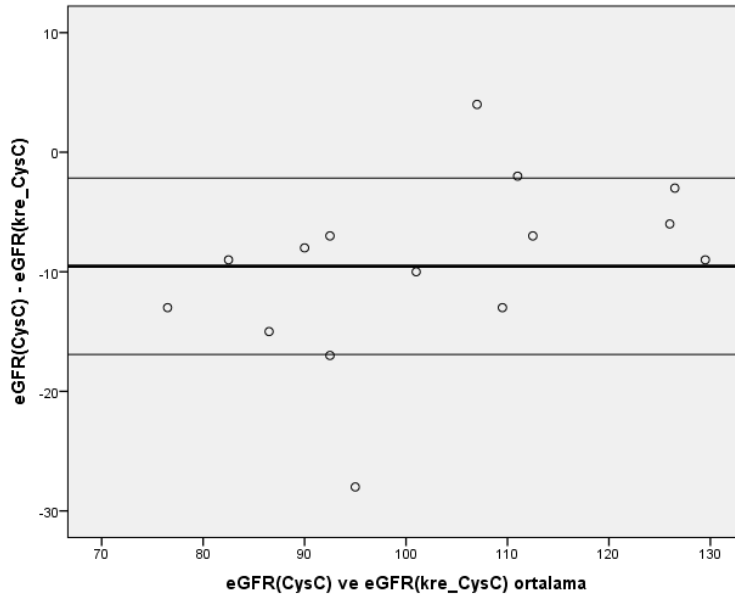
Ölçüm uyumsuzluğunun eGFR değerleri ile ilişkili olup olmadığını incelemek için her ikili ölçüm karşılaştırması için Bland-Altman grafikleri çizildi. Uyumsuzluğun düşük ya da yüksek eGFR değerleri ile belirgin değişiklik göstermediği gözlemlendi (Şekil 4.1, 4.2, 4.3).



Şekil 4.1. Sistatin C'ye göre eGFR ile kreatinine göre eGFR'nin Bland-Altman grafiği. Yatay çizgilerden kalın olanı ölçüm farklarının ortalamasını, ince çizgiler ise ± 1 standart sapmayı göstermektedir. Alçak ya da yüksek eGFR düzeylerine göre uyumsuzlukta belirgin bir değişiklik yoktur.



Şekil 4.2. Sistatin C ve kreatinine göre eGFR ile kreatinine göre eGFR'nin Bland-Altman grafiği. Yatay çizgilerden kalın olanı ölçüm farklarının ortalamasını, ince çizgiler ise ± 1 standart sapmayı göstermektedir. Alçak ya da yüksek eGFR düzeylerine göre uyumsuzlukta belirgin bir değişiklik yoktur.



Şekil 4.3. Sistatin C'ye göre eGFR ile kreatinine ve sistatin C'ye göre eGFR'nin Bland-Altman grafiği. Yatay çizgilerden kalın olanı ölçüm farklarının ortalamasını, ince çizgiler ise ± 1 standart sapmayı göstermektedir. Alçak ya da yüksek eGFR düzeylerine göre uyumsuzlukta belirgin bir değişiklik yoktur.

Spot idrarda protein ve albümin düzeyleri ile kreatinine oranları Tablo 4.20’de sunulmuştur. Spot idrar kreatinin düzeyleri 32 ile 295 mg/dL arasında değişmektedir. Ortanca spot idrar kreatinini 119,5 (86,5-134,5) mg/dL’dir. Spot idrar albümin düzeyleri 0,2 ile 13,6 mg/dL arasındadır. İdrar albümin ortanca düzeyi 1,26 (0,75-5,86) mg/dL’dir. Spot idrar protein düzeyleri 4,9 ile 27,9 mg/dL aralığındadır. Ortalaması $18,85 \pm 7,41$ mg/dL’dir.

Spot idrar protein:kreatinin oranları 0,053–0,328 mg/mg arasındadır. Ortalaması $0,171 \pm 0,083$ mg/mg’dır. Beş hastada oran 0,2 mg/mg’nin üzerinde hesaplanmıştır.

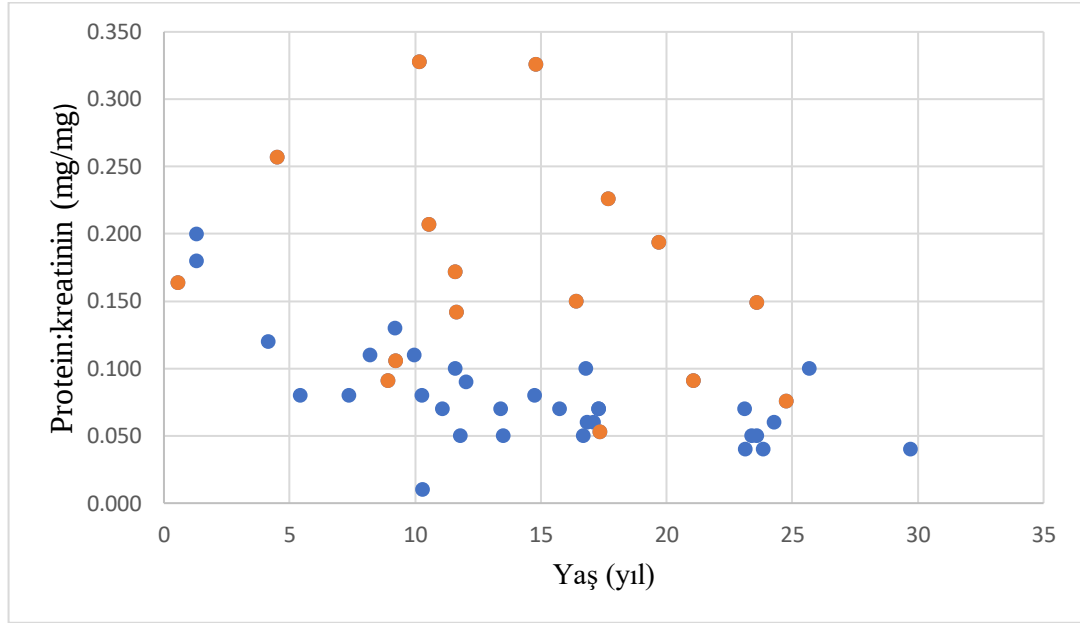
Spot idrar albümin:kreatinin oranları 1,47–107,09 mg/g arasında bulunmuştur. 4 hastanın oranı 30 mg/g’nin üzerindedir (mikroalbüminüri). Ortanca düzey 13,02 (7,72-34,20) mg/g’dir.

Tablo 4.20. Spot idrar kreatinin, protein ve albümin düzeyleri

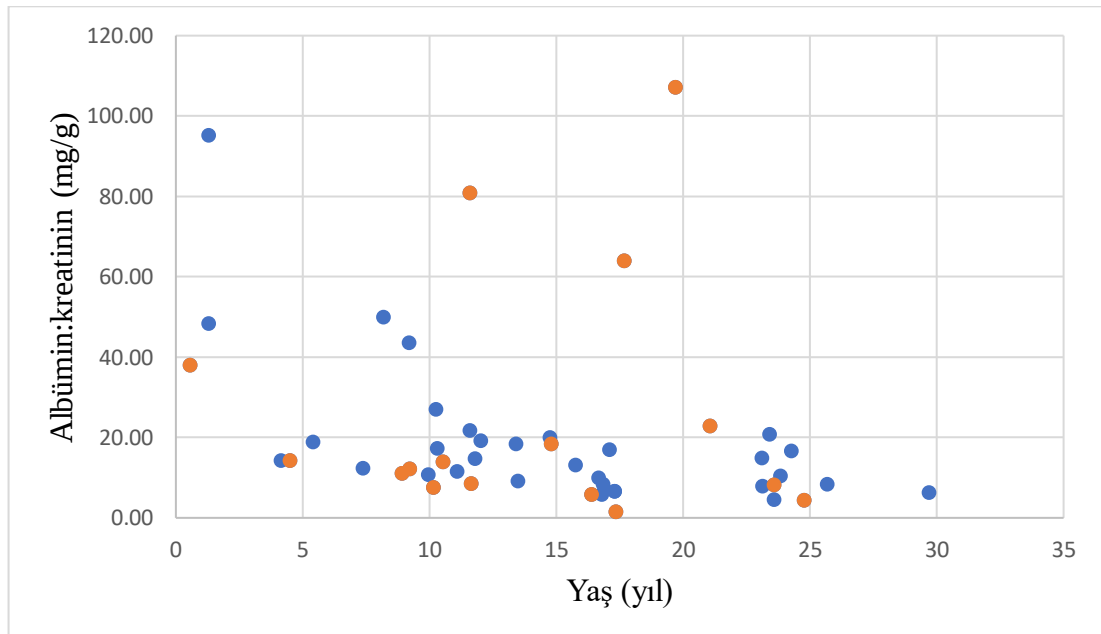
Hasta	Spot idrarda kreatinin (mg/dL)	Spot idrarda albümin (mg/dL)	Spot idrarda protein (mg/dL)	Spot idrar protein/kreatinin oranı (mg/mg)	Spot idrar albümin/kreatinin oranı (mg/g)
01	295	6,75	27,1	0,091	22,88
02	263	1,13	20,1	0,076	4,30
03	85	0,65	27,9	0,328	7,59
04	45	0,82	14,8	0,326	18,31
05	123	0,72	18,7	0,150	5,85
06	116	7,41	26,3	0,226	63,88
07	130	1,80	27,1	0,207	13,85
08	116	0,99	16,6	0,142	8,53
09	32	0,26	4,9	0,149	8,13
10*	127	13,60	24,8	0,194	107,09
11	136	0,20	7,3	0,053	1,47
12	84	3,19	13,9	0,164	37,98
13	172	1,89	15,9	0,091	10,99
14	122	9,87	21,2	0,172	80,90
15	98	1,39	25,3	0,257	14,18
16	91	1,11	9,7	0,106	12,20

*H10, Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü kullanmaktaydı.

Hasta ve kontrollerin yaşlarına göre spot idrar protein:kreatinin ve albümin:kreatinin oranlarının dağılımları Şekil 4.4 ve Şekil 4.5'te belirtilmiştir.



Şekil 4.4. Hasta ve kontrollerin yaşlarına göre spot idrar protein:kreatinin oranlarının dağılımı. Turuncu noktalar hastaları, mavi noktalar kontrolleri göstermektedir.



Şekil 4.5. Hasta ve kontrollerin yaşlarına göre spot idrar albümin:kreatinin oranlarının dağılımı. Turuncu noktalar hastaları, mavi noktalar kontrolleri göstermektedir.

Spot idrar kreatinin, albümin, protein düzeyleri ve protein:kreatinin ile albümin:kreatinin oranlarının diğer tetkiklerle olan güçlü ve çok güçlü korelasyonları Tablo 4.21’de belirtilmiştir. Spot idrar protein değerleri ile ALT düzeyleri arasında güçlü pozitif korelasyon saptanmıştır. Spot idrar protein:kreatinin oranı ile toplam atak sayısı güçlü pozitif korele bulunmuştur. Albümin:kreatinin oranı, GGT ile güçlü negatif koreledir.

Tablo 4.21. Spot idrar tetkiklerinin korelasyon analizleri

Spot idrar tetkikleri	Diğer	Korelasyon katsayısı	P değeri
Protein (mg/dL)	ALT	0,728 ^p	0,001
Protein:kreatinin (mg/mg)	Toplam atak sayısı	0,612 ^r	0,012
Albümin:kreatinin (mg/g)	GGT	-0,670 ^p	0,005

^p Spearman korelasyon katsayısı, ^r Pearson korelasyon katsayısı, ALT: Alanin aminotransferaz, GGT: Gama glutamil transferaz

Hastaların spot idrardaki elektrolit atılımları Tablo 4.22’de sunulmuştur. Spot idrar sodyum düzeyleri 21-254 mEq/L arasındadır ve ortalama sodyum atılımı 156,1±64,4 mEq/L’dir. Hastaların fraksiyonel sodyum ekskresyonları (FeNa) hesaplandığında FeNa yüzdeleri 0,06 ile 1,28 arasında değişmektedir. İki hastada FeNa %1’in üzerindedir; ancak bu hastalarda hiponatremi yoktur. Ortalama FeNa değeri 0,57±0,38’dir.

Spot idrar potasyumları 39 ile 124 mEq/L aralığında saptanmıştır. Ortalama potasyum atılımı 77,1±30,1 mEq/L’dir. Spot idrar klor düzeyleri 40 -336 mEq/L arasında bulunmuştur. Ortalama klor atılımı 187,75±89,12 mEq/L’dir. Spot idrar magnezyum düzeyleri 6,70 ile 35,82 mg/dL arasında değişmektedir. Ortancası 14,26 (8,62-17,43) mg/dL’dir. Spot idrar kalsiyum düzeyleri 6,05-51,91 mg/dL düzeyleri arasındadır. Ortancası 14,04 (7,23-19,43) mg/dL’dir.

Spot idrar fosfor düzeyleri 2,78 ile 108,42 mg/dL arasında değişmektedir. Ortalaması 54,33±28,45 mg/dL’dir. Hastaların TRP’leri hesaplanmış ve TRP yüzdeleri 87 ile 98 arasında bulunmuştur. Ortalaması %93,88±2,94’tür. Hastalarında 11’inde TRP, normal aralık olan %85-95 olarak saptanmıştır. Beş hastanın TRP’si

%95'in üzerindedir, bu değer yetersiz fosfor alımı ile ilişkili olmakla beraber hastaların serum fosfor düzeyleri normaldir.

Tablo 4.22. Spot idrardaki elektrolit atılımları

Hasta	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	Mg (mg/dL)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	FeNa (%)	TRP (%)
01	155	93	160	25,36	15,53	73,70	0,29	94
02	43	47	40	7,97	13,10	65,92	0,08	94
03	221	69	220	10,58	20,03	31,98	0,82	94
04	191	55	209	14,11	11,10	41,33	1,22	87
05	184	41	189	16,51	17,63	37,58	0,54	95
06	106	124	164	17,98	15,70	102,07	0,27	92
07	170	82	198	14,29	7,33	70,17	0,34	95
08	254	98	336	16,51	43,90	32,56	0,86	96
09	108	39	91	7,59	7,19	2,78	1,28	98
10	189	68	256	6,70	14,97	56,13	0,76	89
11	209	67	276	7,42	9,09	40,50	0,95	92
12	21	124	41	17,73	24,06	37,80	0,06	96
13	108	61	97	35,82	51,91	77,45	0,16	96
14	189	124	318	14,60	6,05	23,78	0,42	98
15	140	43	164	14,22	6,41	108,42	0,36	93
16	209	99	245	10,59	7,15	67,12	0,67	93

FeNa: Fraksiyonel sodyum ekskresyonu, TRP: Tübüler fosfor reabsorbsiyonu

Renal tübüler işlevler ile ilişkili üriner protein belirteçlerinin [beta-2 mikroglobulin (B2MG), *kidney injury molecule-1* (KIM1), *neutrophil gelatinase-associated lipocalin* (NGAL), uromodulin (UMOD)] hastaların ve kontrollerin idrarlarındaki mutlak ve idrar kreatinin düzeylerine göre normalize edilmiş düzeyleri Tablo 4.23'te sunulmuştur. Hastaların ve kontrollerin yaşlarına göre üriner protein belirteçlerinin dağılımlarından B2MG:kreatinin Şekil 4.6 ve Şekil 4.7'de, KIM1:kreatinin Şekil 4.8'de, NGAL:kreatinin Şekil 4.9'da ve UMOD:kreatinin Şekil 4.10'da belirtilmiştir. Beta-2 mikroglobulin:kreatinin düzeyleri için ekstrem değeri olan bir hasta çıkarılarak ayrıca bir şekil çizilmiştir (Bkz. Şekil 4.7).

Hasta grubunun spot idrar B2MG düzeyleri 35-3390 ng/mL arasında değişmektedir ve ortancası 161,50 (84,20-241,25) ng/mL'dir. Beta-2 mikroglobulin:kreatinin oranları 33,1 ile 4750,0 ng/mg aralığındadır ve ortanca değer

122,39 (67,40-200,05) ng/mg'dir. Üç hastanın B2MG:kreatinin oranı 300 ng/mg'ın üzerindedir. Kontrol grubunun spot idrar B2MG için ortalama düzeyleri 53,00 (35,75-82,25) ng/mL olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda B2MG:kreatinin oranı için ortalama değeri ise 52,12 (31,03-103,43) ng/mg'dir.

Hastaların spot idrardaki KIM1 düzeyleri 0,021 ile 1,308 ng/mL arasında değişmektedir. Hastaların ortalama KIM1 düzeyi 0,309 (0,137-0,521) ng/mL olarak hesaplanmıştır. KIM1:kreatinin oranları 0,017 ile 1,006 ng/mg arasındadır. Ortalama KIM1:kreatinin oranı 0,224 (0,135-0,421)'tür. Kontrol grubunda spot idrar KIM-1 için ortalama düzeyi 0,20 (0,11-0,37) ng/mL olarak görülmüştür. Bu grupta KIM1:kreatinin ortalama değeri de 0,20 (0,11-0,37)'dir.

Hastaların spot idrar NGAL düzeyleri 2,8 ile 608,7 ng/mL arasında değişmektedir. Ortalama NGAL düzeyi 22,05 (7,48-146,10) ng/mL'dir. NGAL:kreatinin oranları 3,36 ile 655,78 ng/mg arasındadır. Ortalama değeri ise 15,44 (8,87-115,44)'tür. Kontrol grubunda spot idrar NGAL için ortalama düzeyi 11,45 (1,45-41,23) iken NGAL:kreatinin ortalama değeri 17,56 (1,50-30,63) olarak bulunmuştur.

Hasta grubunda spot idrar UMOD düzeyleri 0,68 ile 113,30 ng/mL arasında değişmektedir. Ortalama UMOD düzeyi 9,41 (4,53-22,84) ng/mL'dir. UMOD:kreatinin oranları 0,259 ile 134,881 ng/mg arasında görülmüştür. Ortancası ise 8,09 (2,98-22,64)'dur. Kontrol grubunun spot idrar UMOD için ortalama düzeyi 4,77 (2,11-11,34), UMOD:kreatinin için ortalama değeri 4,64 (2,21-12,26) olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.23. Hasta ve kontrol gruplarının tübüler belirteçleri

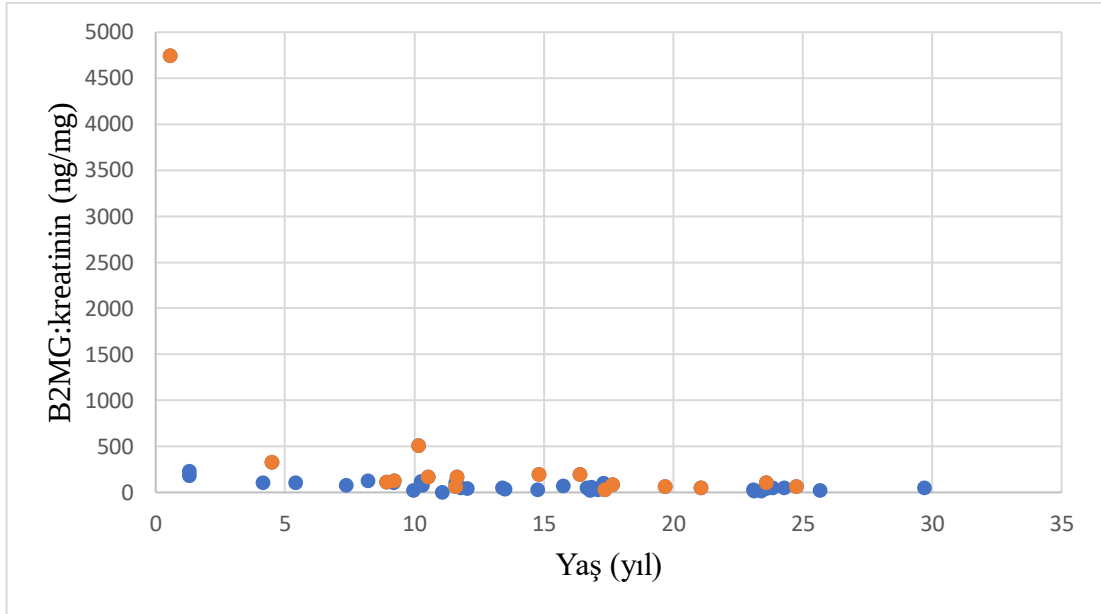
Örnek	Spot idrar kreatinin (mg/mL)	B2MG (ng/mL)	B2MG: kreatinin (ng/mg)	KIM1 (ng/mL)	KIM1: kreatinin (ng/mg)	NGAL (ng/mL)	NGAL: kreatinin (ng/mg)	UMOD (ng/mL)	UMOD: kreatinin (ng/mg)
H01	2,95	146	49,5	0,602	0,204	45,1	15,29	7,63	2,59
K01A	1,77	32	18,1	0,141	0,080	1,1	0,62	4,71	2,66
K01B	1,72	89	51,7	0,379	0,220	17,3	10,06	1,47	0,86
H02	2,63	177	67,3	0,136	0,052	24,3	9,24	0,68	0,26
K02A	1,6	84	52,5	0,006	0,004	0,2	0,13	7,85	4,91
K02B	2,02	47	23,3	0,04	0,020	0,3	0,15	38,72	19,17
H03	0,85	434	510,6	0,35	0,412	5,7	6,71	50,05	58,88
K03A	1,17	123	105,1	0,515	0,440	3,7	3,16	21,33	18,23
K03B	0,46	48	104,4	0,13	0,283	2,5	5,44	3,27	7,11
H04	0,45	89	197,8	0,164	0,364	295,1	655,78	10,60	23,56
K04A	2,64	72	27,3	0,645	0,244	315,1	119,36	5,63	2,13
K04B	0,76	56	73,7	0,351	0,462	15,7	20,66	1,17	1,54
H05	1,23	247	200,8	0,485	0,394	12,8	10,41	11,62	9,45
K05A	3,45	204	59,1	0,576	0,167	114,6	33,22	15,10	4,38
K05B	1,5	151	100,7	0,237	0,158	30,5	20,33	22,52	15,01
H06	1,16	101	87,1	0,727	0,627	64,5	55,60	13,56	11,69
K06A	0,2	25	125,0	0,138	0,690	0,2	1,00	1,42	7,10
K06B	2,31	77	33,3	0,888	0,384	143,0	61,91	2,91	1,26
H07	1,3	224	172,3	1,308	1,006	608,7	468,23	25,87	19,90
K07A	1,42	76	53,5	0,617	0,435	104,3	73,45	6,20	4,37
K07B	0,87	5	5,8	0,13	0,149	134,0	154,02	6,09	7,00
H08	1,16	194	167,2	0,138	0,119	3,9	3,36	13,75	11,85
K08A	0,68	34	50,0	0,212	0,312	0,2	0,29	1,02	1,50
K08B	0,52	25	48,1	0,108	0,208	0,2	0,39	12,31	23,67
H09	0,32	35	109,4	0,055	0,172	2,8	8,75	0,91	2,84
K09A	2,88	86	29,9	0,761	0,264	86,7	30,10	7,05	2,45
K09B	2,65	114	43,0	0,276	0,104	39,2	14,79	8,80	3,32

Tablo 4.23. Hasta ve kontrol gruplarının tübüler belirteçleri, devam

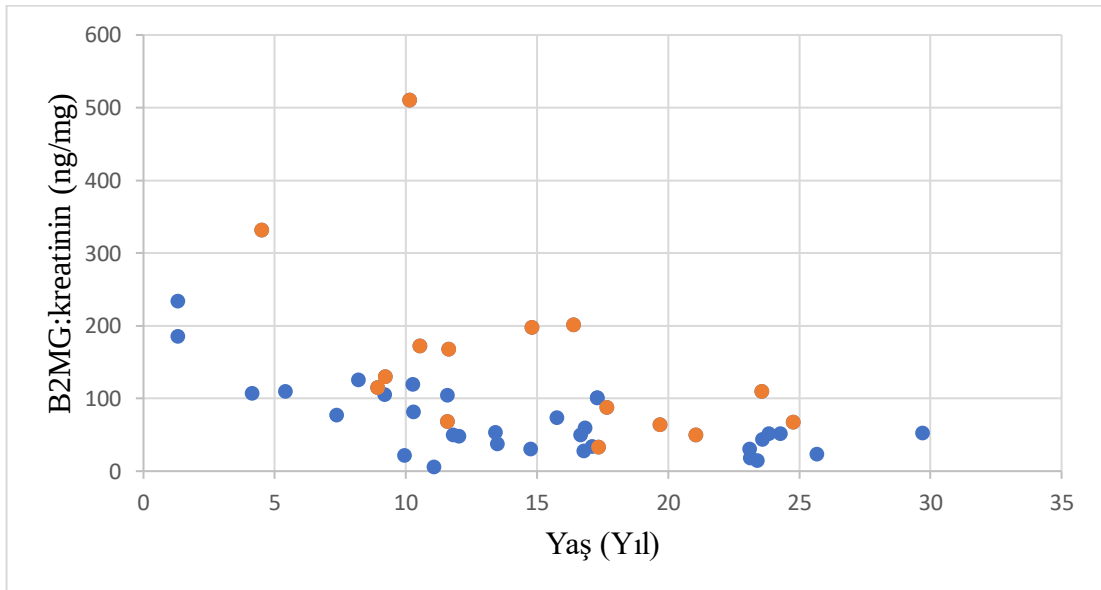
Örnek	Spot idrar kreatinin (mg/mL)	B2MG (ng/mL)	B2MG: kreatinin (ng/mg)	KIM1 (ng/mL)	KIM1: kreatinin (ng/mg)	NGAL (ng/mL)	NGAL: kreatinin (ng/mg)	UMOD (ng/mL)	UMOD: kreatinin (ng/mg)
H10	1,27	81	63,8	0,021	0,017	19,8	15,59	4,46	3,51
K10A	0,48	6,83	14,2	0,018	0,038	0,2	0,42	0,79	1,65
K10B	0,96	49	51,0	0,129	0,134	1,1	1,15	3,63	3,78
H11	1,36	45	33,1	0,333	0,245	13,0	9,56	3,02	2,22
K11A	1,01	50	49,5	0,526	0,521	2,6	2,57	3,67	3,63
K11B	1,5	151	100,7	0,205	0,137	32,0	21,33	18,88	12,59
H12	0,84	3990	4750,0	0,356	0,424	66,0	78,57	113,30	134,88
K12A	0,28	66	233,2	0,108	0,382	8,2	28,98	3,92	13,85
K12B	0,11	19,5	185,5	0,019	0,181	6,9	65,65	0,87	8,28
H13	1,72	198	115,1	0,284	0,165	219,7	127,73	5,80	3,37
K13A	0,81	62	76,5	0,302	0,373	9,7	11,98	4,83	5,96
K13B	1,3	28	21,5	0,219	0,168	30,1	23,15	27,12	20,86
H14	1,22	82,6	67,7	0,533	0,437	172,8	141,64	8,22	6,74
K14A	1,52	46	30,3	0,313	0,206	41,9	27,57	2,04	1,34
K14B	1,1	41	37,3	0,075	0,068	11,5	10,46	2,32	2,11
H15	0,98	325	331,6	0,122	0,124	18,2	18,52	28,01	28,58
K15A	0,53	58	109,4	0,186	0,351	12,8	24,15	1,69	3,19
K15B	0,7	75	107,1	0,017	0,024	7,3	10,43	12,19	17,41
H16	0,91	118	129,7	0,154	0,169	5,7	6,26	4,75	5,22
K16A	0,37	44	118,9	0,031	0,084	11,4	30,81	2,82	7,62
K16B	0,58	47	81,0	0,114	0,197	77,6	133,79	6,54	11,28

KxA ve KxB: Hasta x'in (Hx) yaş ve cinsiyeti eşleştirilmiş kontrol grubu örnekleri

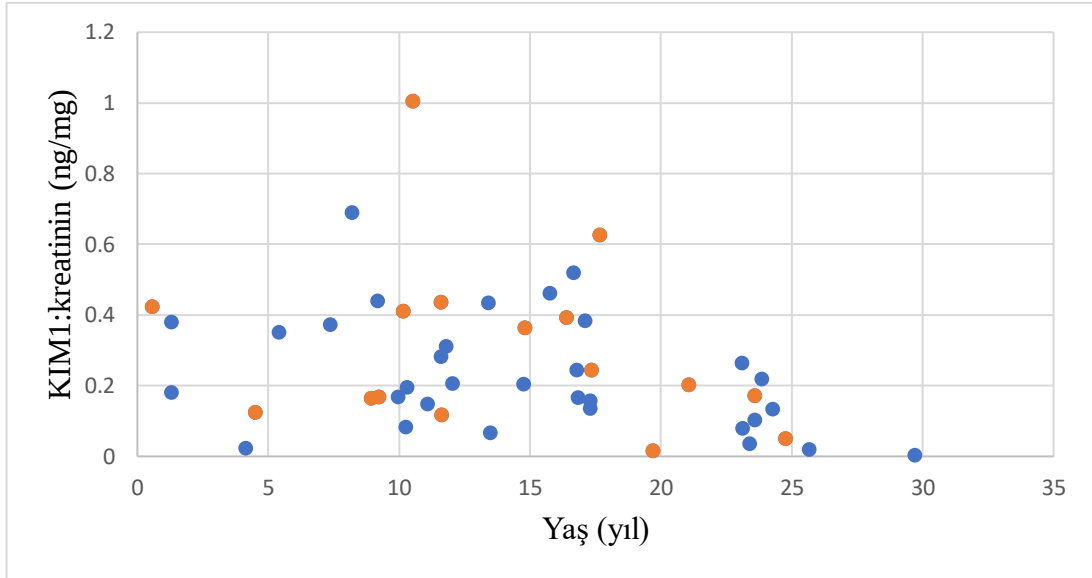
B2MG: Beta-2 mikroglobulin, KIM1: *Kidney injury molecule-1*, NGAL: *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin*, UMOD: Uromodulin



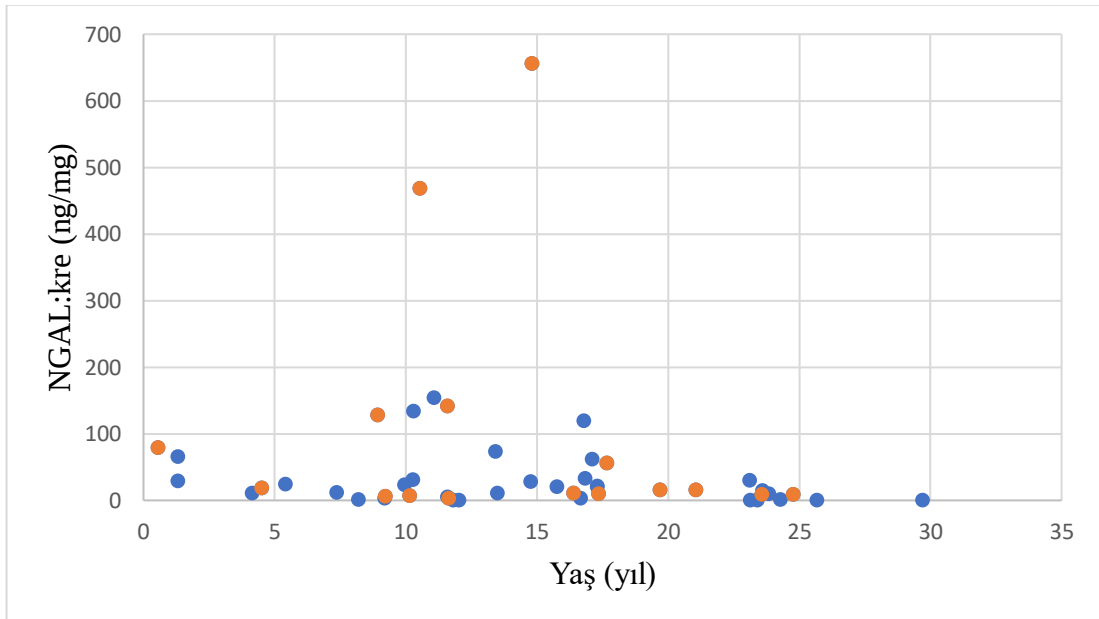
Şekil 4.6. Hasta ve kontrollerin yaşlarına göre spot idrar B2MG:kreatinin oranlarının dağılımı. Turuncu noktalar hastaları, mavi noktalar kontrolleri göstermektedir.



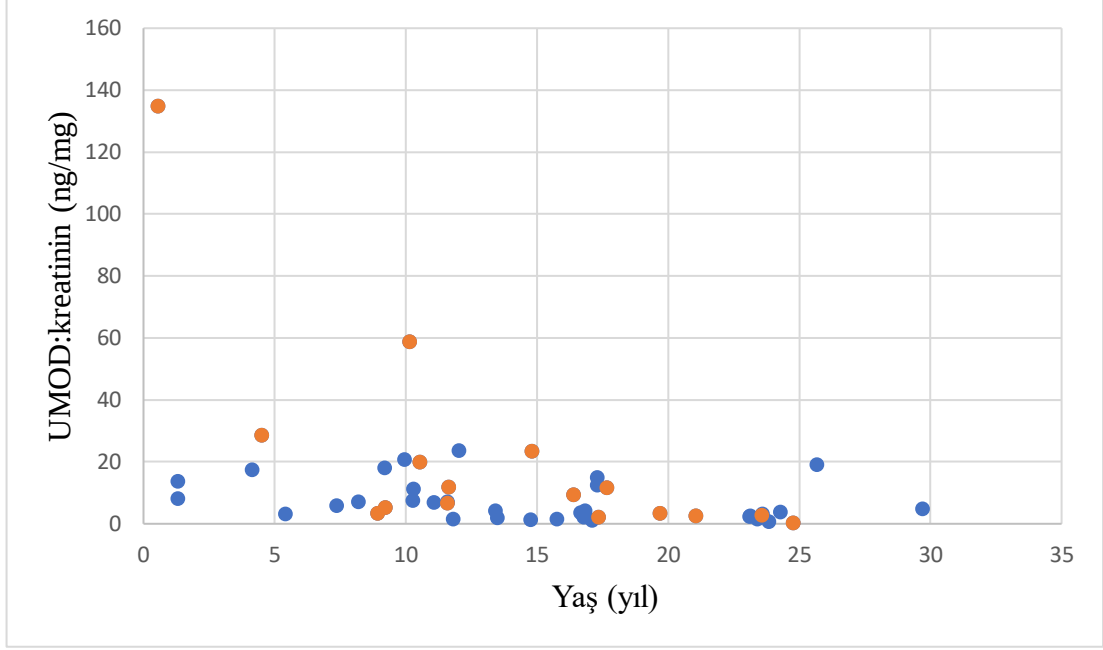
Şekil 4.7. Hasta ve kontrollerin yaşlarına göre spot idrar B2MG:kreatinin oranlarının ekstrem değeri olan bir hastanın (Hasta #12) çıkartılarak dağılımı. Turuncu noktalar hastaları, mavi noktalar kontrolleri göstermektedir.



Şekil 4.8. Hasta ve kontrollerin yaşlarına göre spot idrar KIM1:kreatinin oranlarının dağılımı. Turuncu noktalar hastaları, mavi noktalar kontrolleri göstermektedir.



Şekil 4.9. Hasta ve kontrollerin yaşlarına göre spot idrar NGAL:kreatinin oranlarının dağılımı. Turuncu noktalar hastaları, mavi noktalar kontrolleri göstermektedir.



Şekil 4.10. Hasta ve kontrollerin yaşlarına göre spot idrar UMOD:kreatinin oranlarının dağılımı. Turuncu noktalar hastaları, mavi noktalar kontrolleri göstermektedir.

Spot idrar B2MG düzeyleri ile serum magnezyum düzeyleri güçlü pozitif; başvuru yaşı ve bikarbonat düzeyleri ise güçlü negatif korele saptanmıştır. Spot idrar B2MG:kreatinin oranı ile tanı sonrası atak sayısı, toplam atak sayısı, yapay protein alımı ve toplam protein alımı arasında güçlü pozitif; başvuru yaşı ve kreatinin arasında ise güçlü negatif korelasyon bulunmuştur (Tablo 4.24).

Tablo 4.24. Beta-2 mikroglobulin ve B2MG:kreatinin oranlarının diğer tetkikler ile korelasyon analizleri

Spot idrar tetkikleri	Diğer	Korelasyon katsayısı ^p	P değeri
B2MG (ng/mL)	Serum magnezyum	0,694	0,003
	Başvuru yaşı	-0,638	0,008
	Bikarbonat	-0,662	0,005
B2MG:kreatinin (ng/mg)	Tanı sonrası atak sayısı	0,671	0,004
	Toplam atak sayısı	0,643	0,007
	Yapay protein alımı	0,630	0,009
	Toplam protein alımı	0,659	0,006
	Başvuru yaşı	-0,703	0,002
	Serum kreatinin	-0,680	0,004

^p Spearman korelasyon katsayısı, B2MG: Beta-2 mikroglobulin

Hasta grubunda, diğer tübüler belirteçler ile korelasyon veren tetkikler Tablo 4.25'te gösterilmiştir. Spot idrar KIM1 düzeyleri ile AST ve spot idrar magnezyum arasında güçlü pozitif korelasyon vardır. KIM1:kreatinin oranları ile total protein alımı ve potasyum düzeyleri güçlü pozitif korele bulunmuştur.

Spot idrar NGAL düzeyleri ile prealbumin düzeyleri arasında güçlü negatif korelasyon saptanmıştır. NGAL:kreatinin oranları ile boya göre vücut ağırlığı, albümin, prealbümin ve glutarik asit atılımları güçlü negatif koreledir.

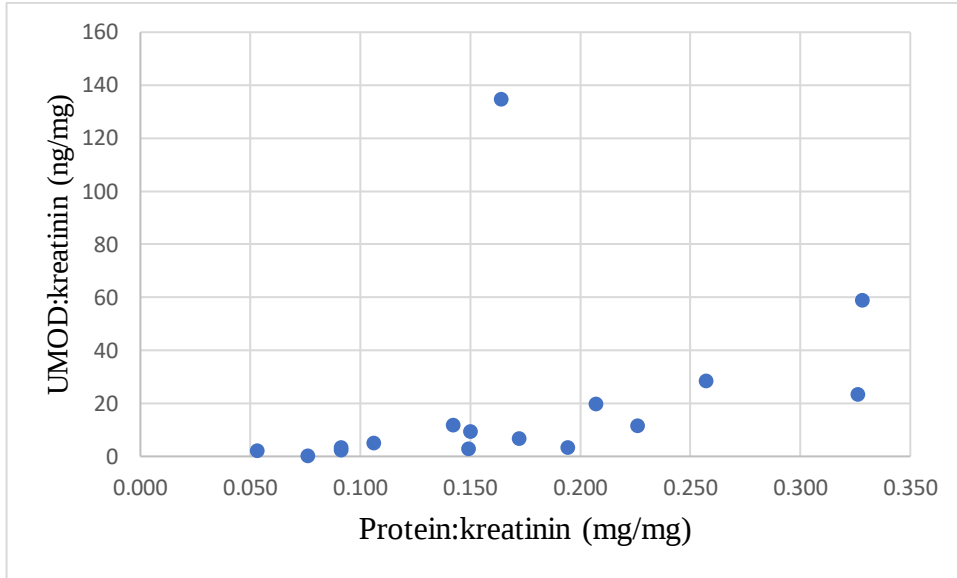
Spot idrar UMOD:kreatinin ile B2MG:kreatinin ve protein:kreatinin oranları arasında çok güçlü pozitif, UMOD ile B2MG:kreatinin ve protein:kreatinin arasında güçlü pozitif korelasyon vardır. Spot idrar UMOD düzeyleri ve UMOD:kreatinin oranları ile toplam protein alımı, ALP ve B2MG arasında güçlü pozitif korelasyon vardır. UMOD düzeyleri ve UMOD:kreatinin oranları ile başvuru yaşı, serum kreatinin ve ferritin güçlü negatif korele saptanmıştır. UMOD ile bikarbonat düzeyleri güçlü negatif koreledir. UMOD:kreatinin oranları ile tanı sonrası ve toplam atak sayısı arasında güçlü pozitif korelasyon vardır.

Spot idrar protein:kreatinin oranları ile UMOD:kreatinin oranları arasındaki çok güçlü pozitif korelasyon Şekil 4.11'de gösterilmiştir. Bir hastanın (Hasta #12) UMOD:kreatinin düzeyi ekstrem bir değer olduğundan bu hasta çıkarılarak ayrıca bir grafik ve eğilim çizgisi çizilmiştir (Şekil 4.12). Spot idrar B2MG:kreatinin oranları ile UMOD:kreatinin oranları arasındaki çok güçlü pozitif korelasyon Şekil 4.13'te gösterilmiştir. Bir hastanın (Hasta #12) B2MG:kreatinin oranı ekstrem bir değer olduğundan bu hasta çıkarılarak ayrıca bir grafik oluşturulmuş ve eğilim çizgisi çizilmiştir (Şekil 4.14). Diğer güçlü korelasyonların grafikleri EK-5'te sunulmuştur. Kontrol grubundan bakılan idrar tetkiklerinin de birbirleriyle olan korelasyonları değerlendirilmiştir. Hasta grubunda gösterilen spot idrar protein:kreatinin ile UMOD:kreatinin ve B2MG:kreatinin ile UMOD:kreatinin oranları arasındaki pozitif korelasyon kontrol grubunda anlamlı olarak bulunmuştur ($p=0,001$ ve $p=0,033$). Kontrol grubunun anlamlı korelasyonları EK-6'da sunulmuştur.

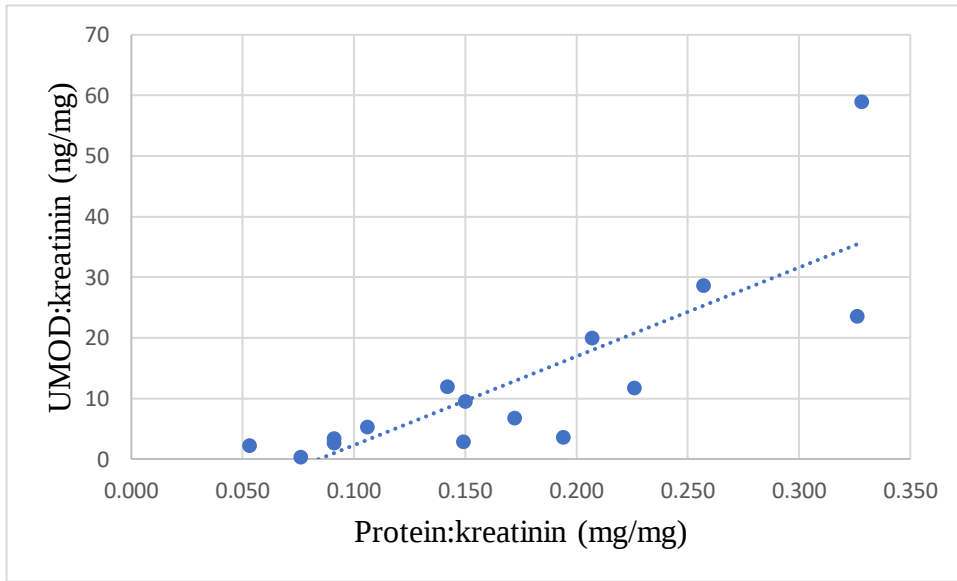
Tablo 4.25. Tübüler biyobelirteçlerin diğer tetkikler ile korelasyon analizi

Spot idrar tetkikleri	Diğer	Korelasyon katsayısı ^p	P değeri
KIM1 (ng/mL)	AST	0,606	0,013
	Spot idrar magnezyum	0,602	0,014
KIM1:kreatinin (ng/mg)	Toplam protein alımı	0,644	0,007
	Potasyum	0,648	0,007
NGAL (ng/mL)	Prealbumin	-0,734	0,001
NGAL:kreatinin (ng/mg)	Boya göre vücut ağırlığı	-0,620	0,032
	Serum albümin	-0,642	0,007
	Prealbumin	-0,712	0,002
	İdrarda glutarik asit atılımı	-0,643	0,007
UMOD (ng/mL)	Başvuru yaşı	-0,668	0,005
	Toplam protein alımı	0,674	0,004
	ALP	0,708	0,002
	Bikarbonat	-0,697	0,003
	Serum kreatinin	-0,635	0,008
	Ferritin	-0,744	0,001
	B2MG	0,753	0,001
	B2MG:kreatinin	0,788	<0,001
	Protein:kreatinin	0,658	0,006
UMOD:kreatinin (ng/mg)	Başvuru yaşı	-0,685	0,003
	Tanı sonrası atak sayısı	0,622	0,010
	Toplam atak sayısı	0,616	0,011
	Toplam protein alımı	0,665	0,005
	ALP	0,670	0,005
	Serum kreatinin	-0,698	0,003
	Ferritin	-0,632	0,009
	B2MG	0,624	0,010
	B2MG:kreatinin	0,874	<0,001
	Protein:kreatinin	0,801	<0,001

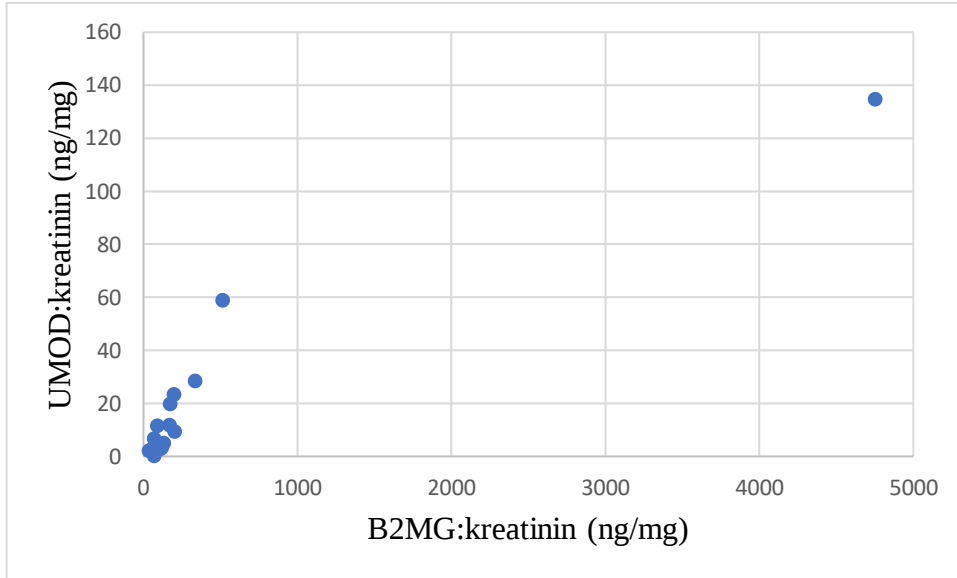
^p Spearman korelasyon katsayısı, ALP: Alkalen fosfataz, AST: Aspartat aminotransferaz, B2MG: Beta-2 mikroglobulin, KIM1: *Kidney injury molecule-1*, NGAL: *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin*, UMOD: Uromodulin



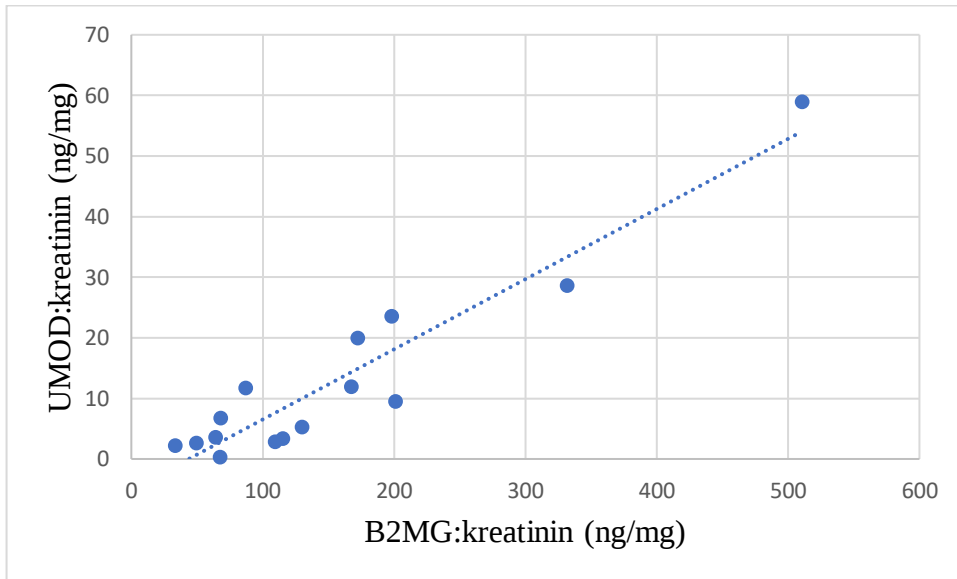
Şekil 4.11. Spot idrar protein: kreatinin ve UMOD: kreatinin oranları



Şekil 4.12. Spot idrar protein: kreatinin ve UMOD: kreatinin oranlarının ekstrem değeri olan hasta çıkarılarak oluşturulan eğilim çizgisi



Şekil 4.13. Spot idrar B2MG: kreatinin ve UMOD: kreatinin oranları



Şekil 4.14. Spot idrar B2MG: kreatinin ve UMOD: kreatinin oranlarının ekstrem değeri olan hasta çıkarılarak oluşturulan eğilim çizgisi.

4.4. Renal Ultrasonografi ve Doppler Ultrasonografisi Bulguları

Hastalardan renal US ve Doppler US incelemeleri yapılmıştır. Sağ böbreğe ait sonuçlar Tablo 4.26’da, sol böbreğe ait ölçümler ise Tablo 4.27’de belirtilmiştir.

Yapılan renal US tetkiklerinde; böbrek kontürleri, parankim ekojeniteleri, renal pelvis dilatasyon durumu, ekstra renal pelvis görünüm durumu, kaliks dilatasyonu olup olmadığı, üreter dilatasyonu olup olmadığı ve renal arter orijininin normal olup olmadığı değerlendirilmiştir.

- Hastaların tümünün sağ ve sol böbrek kontürleri düzgündür.
- Hastaların tümünün sağ ve sol böbrek parankim ekojeniteleri normaldir.
- Hastaların hiçbirinde sağ ve sol renal pelviste dilatasyon saptanmamıştır.
- Hastaların hiçbirinde ekstra renal pelvis görünümü yoktur.
- Hastaların hiçbirinde sağ ve sol kaliks dilatasyonu yoktur.
- Hastaların hiçbirinde sağ ve sol üreter dilatasyonu görülmemiştir.
- Hastaların tümünün sağ ve sol renal arter orijinleri normaldir, daralma saptanmamıştır. (Renal arter orijinleri 15 hastada değerlendirilebilmiştir. Diğer değerlendirmeler 16 hastanın tümünde yapılmıştır.)

Sağ böbrek ölçümleri ele alındığında, uzunlukları 51-146 mm arasında saptanmıştır ve ortalama uzunluk $87,4 \pm 24,4$ mm’dir. İlyak arter resistive index (RI) değerleri 0,51-0,74 arasındadır, ortalamaları ise $0,62 \pm 0,06$ ’dır. İlyak ve renal arter ivmeleri için en küçük ile en büyük değerler sırasıyla 762-7548 ve 1026-6416 cm/sn² olup ilyak arter ivmesinin ortancası 1264 (956-1816), renal arter ivmesinin ortalaması 3591 ± 1654 cm/sn² olarak hesaplanmıştır. Renal ven akım hızları 15-35 cm/sn arasında değişmektedir, ortalaması $23,9 \pm 5,3$ ’tür.

Sol böbrek ölçümleri ele alındığında ise uzunlukları 48-121 mm arasında saptanmıştır ve ortalama uzunluk $86,7 \pm 19,3$ mm’dir. İlyak arter resistive index (RI) değerleri 0,51-0,74 arasındadır, ortalamaları ise $0,61 \pm 0,06$ ’dır. İlyak ve renal arter ivmeleri için en küçük ile en büyük değerler sırasıyla 645-4566 ve 1065-7446 cm/sn² olup ilyak arter ivmesinin ortancası 1363 (989-2047), renal arter ivmesinin ortalaması 3437 ± 1972 cm/sn² olarak hesaplanmıştır. Renal ven akım hızları 17-36 cm/sn arasında değişmektedir, ortalaması $23,1 \pm 5,1$ ’dir.

Tablo 4.26. Sağ böbrek ultrasonografisine ve Doppler incelemesine ait ölçümler.

Sağ böbrek	Sayı	Değerler	Min	Max
Uzunluk (mm)	16	87,4±24,4	51	146
Anteroposterior çap (mm)	16	36,6±10,08	19	58
Transvers çap (mm)	16	42,9±9,10	27	59
Hacim (ml)	16	81,9±50,87	14	180
Parankim üst pol kalınlığı (mm)	15	11,3±2,05	7	15
Parankim orta pol kalınlığı (mm)	15	12,6±2,53	8	16
Parankim alt pol kalınlığı (mm)	15	12,1±2,55	7	17
İlyak arter Resistive Index (RI)	16	0,62±0,06	0,51	0,74
İlyak arter Pulsatility Index (PI)	16	0,89±0,13	0,68	1,16
İlyak arter ivme (cm/sn ²)	16	1264 (956-1816)	762	7548
İlyak arter ivme zamanı (msn)	16	7 (7-15)	7	22
Renal arter akım hızı (cm/sn)	15	77,4±21,54	37	109
Renal arter ivme (cm/sn ²)	15	3591±1654	1026	6416
Renal arter ivme zamanı (msn)	15	15 (7-15)	7	37
Renal ven akım hızı (cm/sn)	16	23,9±5,3	15	35

Değerler normal dağılım gösteren parametrelerde ortalama±standart sapma, normal dağılım göstermeyenlerde ise ortanca (Q1-Q3) olarak verilmiştir. Min: En küçük değer, Max: En büyük değer

Tablo 4.27. Sol böbrek ultrasonografisine ve Doppler incelemesine ait ölçümler.

Sol böbrek	Sayı	Değerler	Min	Max
Uzunluk (mm)	15	86,7±19,3	48	121
Anteroposterior çap (mm)	15	37,4±8,7	18	50
Transvers çap (mm)	15	43,5±9,6	25	64
Hacim (ml)	15	84,3±49,9	12	208
Parankim üst pol kalınlığı (mm)	16	12,3±2,6	7	17
Parankim orta pol kalınlığı (mm)	16	13,8±3,5	7	20
Parankim alt pol kalınlığı (mm)	16	13,2±2,7	8	19
İlyak arter Resistive Index (RI)	16	0,61±0,06	0,51	0,74
İlyak arter Pulsatility Index (PI)	16	0,87±0,14	0,68	1,18
İlyak arter ivme (cm/sn ²)	16	1363 (989-2047)	645	4566
İlyak arter ivme zamanı (msn)	16	7 (7-15)	7	29
Renal arter akım hızı (cm/sn)	15	75 (68-83)	43	147
Renal arter ivme (cm/sn ²)	15	3437±1972	1065	7446
Renal arter ivme zamanı (msn)	15	15 (7-22)	7	44
Renal ven akım hızı (cm/sn)	15	23,1±5,1	17	36

Değerler normal dağılım gösteren parametrelerde ortalama±standart sapma, normal dağılım göstermeyenlerde ise ortanca (Q1-Q3) olarak verilmiştir. Min: En küçük değer, Max: En büyük değer

Sağ ve sol renal ven akım hızları ile korelasyon veren tetkikler Tablo 4.28 ve Tablo 4.29’da belirtilmiştir. Sağ renal ven akım hızı ile ALP arasında çok güçlü negatif korelasyon vardır. Sağ renal ven akım hızları ile spot idrar albümin, albümin:kreatinin, UMOD ve UMOD:kreatinin güçlü negatif korele bulunmuştur. Sağ renal ven akım hızı ile sistatin C’ye göre hesaplanmış eGFR ve GGT arasında güçlü pozitif korelasyon görülmüştür. Sol renal ven akım hızları ile spot idrar kreatinin, sistatin C’ye göre hesaplanmış eGFR ve hem kreatinin hem de sistatin C’ye göre hesaplanmış eGFR arasında güçlü pozitif korelasyon bulunmuştur. Sol renal ven akım hızları ile UMOD:kreatinin ve B2MG:kreatinin oranları arasında güçlü negatif korelasyon bulunmuştur.

Tablo 4.28. Sağ renal ven akım hızı ile korelasyon veren tetkikler

Sağ renal ven akım hızı	Korelasyon katsayısı	P değeri
Alkalen fosfataz (ALP)	-0,808 ^r	<0,001
Sistatin C'ye göre eGFR	0,611 ^r	0,012
Gamaglutamil transferaz (GGT)	0,661 ^p	0,005
Spot idrar albümin	-0,668 ^p	0,007
Spot idrar albümin:kreatinin	-0,668 ^p	0,007
UMOD	-0,685 ^p	0,003
UMOD:kreatinin	-0,679 ^p	0,004

UMOD: Uromodulin, ^r Pearson korelasyon katsayısı, ^p Spearman korelasyon katsayısı

Tablo 4.29. Sol renal ven akım hızı ile korelasyon veren tetkikler

Sol renal ven akım hızı	Korelasyon katsayısı	P değeri
Sistatin C ve kreatinine göre eGFR	0,629 ^r	0,012
Sistatin C'ye göre eGFR	0,729 ^r	0,002
Spot idrar kreatinin	0,651 ^p	0,009
UMOD:kreatinin	-0,609 ^p	0,016
B2MG:kreatinin	-0,633 ^p	0,011

B2MG: Beta-2 mikroglobulin, UMOD: Uromodulin, ^r Pearson korelasyon katsayısı, ^p Spearman korelasyon katsayısı

Hastaların vücut boylarına göre sağ böbrek uzunluklarının hangi persentil (p) aralığında olduğu incelenmiştir (Tablo 4.30). Değerlendirilen 16 hastanın dördünde (%25) sağ böbrek uzunluğu 2,5 persentilin altındadır. Bir hastanın (%6,3) sağ böbrek uzunluğu 2,5p-10p aralığındadır. Toplamda beş hastanın (%31,3) boya göre sağ böbrek uzunluk persentili 10p'nin altındadır. En fazla 25p-50p aralığında hastalar bulunmaktadır (n=5, %31,3). Hastalardan ikisinin (%12,6) boya göre sağ böbrek uzunluğu 90p'nin üzerindedir. Bir hasta (%6,3) 90p-97,5p aralığında yer alırken, bir hasta (%6,3) da 97,5p'nin üzerinde yer almaktadır.

Tablo 4.30. Hasta boylarına göre sağ böbrek uzunluk persentilleri

Hasta boylarına göre sağ böbrek uzunluk persentilleri	Sayı (n=16)	Yüzdesi (%)
<2,5	4	25,0
2,5-10	1	6,3
10-25	2	12,5
25-50	5	31,3
50-75	1	6,3
75-90	1	6,3
90-97,5	1	6,3
>97,5	1	6,3

Hastaların vücut boylarına göre sol böbrek uzunluklarının hangi persentil aralığında olduğu incelenmiş (Tablo 4.31), 16 hastanın 15'inin ölçümleri yapılabilmektedir. Bir hastaya ait ölçüm hastanın şiddetli skolyozu olması ve uyum sağlayamaması nedeniyle alınamamıştır. Değerlendirilen 15 hastanın üçünde (%20) sol böbrek uzunluğu 2,5 persentilin altındadır. Üç hastanın (%20) sol böbrek uzunluğu 2,5p-10p aralığındadır. Toplamda altı hastanın (%40) boya göre sol böbrek uzunluk persentili 10p'nin altındadır. En fazla hasta bulunan persentil aralıkları 3'er hasta (%20) ile <2,5p; 2,5p-10p ve 50p-75p'dir. Toplamda 2 hastanın (%13,4) boya göre sol böbrek uzunluk persentili 90p'nin üzerindedir. Bir hasta (%6,7) 90p-97,5p aralığında yer alırken, 1 hasta (%6,7) da 97,5p'nin üzerinde yer almaktadır.

Tablo 4.31. Hasta boylarına göre sol böbrek uzunluk persentilleri

Hasta boylarına göre sol böbrek uzunluk persentilleri	Sayı (n=15)	Yüzdesi (%)
<2,5	3	20,0
2,5-10	3	20,0
10-25	2	13,3
25-50	2	13,3
50-75	3	20,0
75-90	0	0
90-97,5	1	6,7
>97,5	1	6,7

Sağ, sol veya her iki böbrek için boya göre böbrek uzunluğu 2,5 persentilin altında olan 5 hasta ve 2,5 persentilin üzerinde olan 11 hasta iki gruba ayrılarak analizler yapılmıştır (Tablo 4.32). İki grup arasında malnütrisyon ve sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'nin 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında olması ile ilgili anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Tablo 4.32. Boya göre böbrek uzunluğu ile malnütrisyon ve eGFR durumlarının karşılaştırılması

	Böbrek boyutu <2,5 persentil (n=5)	Böbrek boyutu ≥2,5 persentil (n=11)	p*
Malnütrisyon durumu	4 (%80)	4 (%36)	0,282
Sistatin C'ye göre eGFR<90	3 (%60)	5 (%45)	1,000

*Fisher kesin testi

Hastaların özellikli diğer böbrek US bulguları ele alındığında;

- 4 numaralı hastanın mesane trabekülasyonunda belirgin artış saptanmıştır.
- 5 numaralı hastanın şiddetli skolyozu nedeniyle değerlendirme optimal olmayıp bazı ölçüm ve değerlendirmeler yapılamamıştır. Bu hastanın sol böbreğinde grade 3 hidronefroz saptanmıştır.
- 10 numaralı hastanın sağ böbreğinde aks anomalisi vardır.
- 12 numaralı hastada insidental olarak karaciğer sağ lobda subkapsüler yerleşimli 16x9 mm, komşuluğunda 8x6 mm ve 5 mm çaplı lobüle kontürlü kistler izlenmiştir.

4.5. Hasta ve Kontrol Grubu Tetkiklerinin Karşılaştırılması

Çalışmaya dahil edilen her GA1 hastası için yaş ve cinsiyet eşleştirilmiş sağlıklı kontrollerden spot idrar incelemeleri yapılmıştır. Hastaların ve kontrollerin karşılaştırmaları Tablo 4.33'te verilmiştir. Yaş ve cinsiyet açısından benzer olan gruplar arasında spot idrarda albümin, KIM1, NGAL ve UMOD düzeyleri ve bunların spot idrar kreatinin düzeyine oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmazken spot idrarda protein, protein:kreatinin oranı, B2MG ve B2MG:kreatinin oranı hastalarda anlamlı ölçüde daha yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p=0,001$, $p<0,001$, $p<0,001$ ve $p=0,001$).

Tablo 4.33. Hasta ve kontrol grubunun idrar değerlerinin karşılaştırılması

	HASTA (n=16)	KONTROL (n=32)	P
Yaş	13,21 (9,44-19,17)	14,11 (10,02-21,63)	0,818
Erkek cinsiyet	7 (%44)	16 (%50)	0,683
Spot idrar kreatinin (mg/dL)	119,00 (86,50-134,50)	105,5 (54,25-169,00)	0,743
Spot idrar albümin (mg/dL)	1,26 (0,75-5,86)	1,00 (1,00-1,68)	0,849
Spot idrar protein (mg/dL)	19,40 (14,13-26,05)	7,95 (5,13-14,05)	0,001
Protein:kreatinin (mg/mg)	0,16 (0,09-0,22)	0,07 (0,05-0,10)	<0,001
Albümin:kreatinin (mg/g)	13,02 (7,72-34,20)	14,50 (8,58-19,76)	0,844
Spot idrar B2MG (ng/mL)	161,50 (84,20-241,25)	53,00 (35,75-82,25)	<0,001
B2MG:kreatinin (ng/mg)	122,39 (67,40-200,05)	52,12 (31,03-103,43)	0,001
KIM1 (ng/mL)	0,31 (0,14-0,52)	0,20 (0,11-0,37)	0,242
KIM1:kreatinin (ng/mg)	0,22 (0,13-0,42)	0,20 (0,11-0,37)	0,418
NGAL (ng/mL)	22,05 (7,48-146,10)	11,45 (1,45-41,23)	0,071
NGAL:kreatinin (ng/mg)	15,44 (8,87-115,44)	17,56 (1,50-30,63)	0,284
UMOD (ng/mL)	9,41 (4,53-22,84)	4,77 (2,11-11,34)	0,096
UMOD:kreatinin (ng/mg)	8,09 (2,98-22,64)	4,64 (2,21-12,26)	0,205

Sayı ve yüzde ile belirtilen cinsiyet dağılımı dışındaki değerler ortanca (Q1-Q3) olarak belirtilmiştir. Cinsiyet analizi ki kare ile, diğer analizler Mann Whitney U testi ile yapılmıştır. P değeri 0,05'in altında olması durumunda anlamlı kabul edilmiştir. B2MG: Beta-2 mikroglobulin, KIM1: *Kidney injury molecule-1*, NGAL: *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin*, UMOD: Uromodulin

4.6. Tahmini Glomerüler Filtrasyon Hızına Göre Değerlerin Karşılaştırılması

Hastalar sistatin C formülü ile hesaplanan eGFR'ye göre değerlendirildiğinde, sekiz hastanın eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin üzerinde iken yedi hastanın eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında bulunmuştur. Hastalardan biri 1 yaşın altında olduğundan ve bu yaşta sistatin C temelli eGFR formülünün kullanımı tartışmalı olduğundan bu hasta eGFR analizine dahil edilmemiştir.

Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan hasta grupları cinsiyet, GA1 fenotipi, eşlik eden nörolojik bulgular, gelişim düzeyi, ilaç kullanımı, malnütrisyon açısından karşılaştırılmıştır. Bu bulgularda anlamlı bir farklılık yoktur (Tablo 4.34).

Tablo 4.34. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan hastaların cinsiyet ve eşlik eden özelliklere göre karşılaştırılması

	eGFR >90 (n=8)	eGFR <90 (n=7)	P*
Cinsiyet, kız	4 (%50)	4 (%57)	1,000
GA1 fenotip, high excretor	7 (%88)	7 (%100)	1,000
Epilepsi	4 (%50)	4 (%57)	1,000
Aksiyel distoni	4 (%50)	2 (%29)	0,608
Ekstremit distonisi	2 (%25)	3 (%43)	0,608
Aksiyel hipotoni	3 (%38)	2 (%29)	1,000
Eksremite hipertoni	4 (%50)	2 (%29)	0,608
Kontraktür	4 (%50)	2 (%29)	0,608
Makrosefali	4 (%50)	6 (%86)	0,282
Baş kontrolü	6 (%75)	7 (%100)	0,467
Desteksiz oturma	4 (%50)	5 (%71)	0,608
Desteksiz yürüme	4 (%50)	5 (%71)	0,608
Karnitin kullanımı	8 (%100)	6 (%86)	0,467
Riboflavin kullanımı	7 (%88)	6 (%86)	1,000
Malnütrisyon durumu	5 (%63)	2 (%29)	0,315

Tüm eGFR hesaplamaları mL/dk/1,73 m² cinsinden sunulmuştur, *Fisher kesin testi

Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan hasta gruplarının beyin MRG bulguları arasında anlamlı bir farklılık yoktur (Tablo 4.35).

Tablo 4.35. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan hastaların MRG bulgularının karşılaştırılması

	eGFR >90 (n=8)	eGFR <90 (n=7)	P*
Frontotemporal atrofi/genişleme	4 (%57)	4 (%100)	0,236
Myelinizasyon gecikmesi	2 (%29)	2 (%50)	0,576
Globus pallidus tutulumu	4 (%57)	1 (%25)	0,545
Striatum tutulumu	5 (%71)	2 (%50)	0,576
Subdural kanama	1 (%14)	1 (%25)	1,000

Tüm eGFR hesaplamaları mL/dk/1,73 m² cinsinden sunulmuştur, *Fisher kesin testi

Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan hastaların başvuru ve tanı yaşları; tanı öncesi, sonrası ve toplamda geçirdikleri ensefalopatik atak sayıları; tanı anındaki karnitin, glutarilkarnitin, glutarik asit ve 3-OH glutarik asit düzeyleri karşılaştırılmış ve anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Tablo 4.36).

Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan hastaların kullandıkları karnitin ve riboflavin dozlarına; doğal, yapay ve toplamda aldıkları günlük protein miktarlarına; konstitüsyonel parametrelerden YGVA z skoru, YGB z skoru, BGVA, VKİ ve VKİ z skoruna göre karşılaştırılması Tablo 4.37'de verilmiştir. Boya göre vücut ağırlığı yüzdesi eGFR>90 olan grupta anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur [76,00 (71,25-82,25) ve 100 (82-109), p=0,047]. Diğer parametrelerde anlamlı bir farklılık yoktur.

Tablo 4.36. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan hastaların tanı anındaki değerlerinin karşılaştırılması

	eGFR >90 (n=8)	eGFR <90 (n=7)	P ⁻
Başvuru yaşı (yıl)	17,24 (10,24-22,94)	11,62 (9,21-17,35)	0,298
Tanı yaşı (yıl)	1,61 (0,60-8,70)	1,25 (0,11-2,18)	0,487
Tanı öncesi atak sayısı	1,0 (0,0-1,0)	1,0 (0,00-1,0)	0,899
Tanı sonrası atak sayısı	1,0 (0,0-3,0)	1,0 (0,0-2,0)	0,904
Toplam atak sayısı	2,5 (0,0-4,0)	2,0 (1,0-3,0)	0,860
Tamda karnitin düzeyi*	7,68 (4,52-16,96)	6,13 (4,12-34,56)	0,949
Tamda glutarilkarnitin düzeyi	0,98 (0,78-1,55)	1,20 (0,77-2,40)	0,452
Tamda glutarik asit⁺	20,65 (4,88-28,75)	46,00 (13,02-75,43)	0,137
Tamda 3-OH glutarik asit⁻	1,00 (1,00-1,50)	1,45 (0,63-2,70)	0,739

Değerler ortanca (Q1-Q3) olarak belirtilmiştir. Karnitin ve glutarilkarnitin düzeyleri µmol/L, glutarik asit ve 3-OH glutarik asit düzeyleri iç standartın katı cinsinden verilmiştir. Tüm eGFR hesaplamaları mL/dk/1,73 m² cinsinden sunulmuştur. * eGFR>90 olan 7 hastada hesaplanmıştır. ⁺ eGFR<90 olan 6 hastada hesaplanmıştır. ⁻ eGFR<90 ve eGFR>90 olan 6 hastada hesaplanmıştır. ⁼ Mann Whitney U testi.

Tablo 4.37. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan hastaların kullanmakta oldukları ilaç dozlarına, aldıkları protein miktarlarına ve konstitüsyonel parametrelerine göre karşılaştırılması

	eGFR >90 (n=8)	eGFR <90 (n=7)	P⁺
Karnitin dozu (mg/kg/gün)	67,0 (34,0-96,5)	50,0 (33,0-65,0)	0,385
Riboflavin doz (mg/gün)	125(100-200)	100 (100-200)	0,951
Doğal protein alımı (g/kg)	0,82 (0,59-0,85)	0,83 (0,74-0,93)	0,452
Yapay protein alımı (g/kg)	0,39 (0,03-0,77)	0,47 (0,00-0,62)	0,726
Toplam protein alımı (g/kg)	1,16 (0,83-1,57)	1,28 (0,97-1,34)	0,817
Yaşa göre vücut ağırlığı z skoru*	-6,25 (-9,81 / -4,93)	-1,09 (-4,40 / -0,12)	0,059
Yaşa göre boy z skoru*	-4,46 (-4,71 / -3,22)	-1,94 (-6,62 / -0,23)	0,257
Boya göre vücut ağırlığı * (%)	76,00 (71,25-82,25)	100 (82-109)	0,047
Vücut kitle indeksi (kg/m²)	15,34 (11,64-20,19)	15,60 (13,44-20,35)	0,817
Vücut kitle indeksi z skoru*	-4,60 (-6,32 / -3,18)	-0,07 (-5,21 / 0,23)	0,131

Değerler ortanca (Q1-Q3) olarak belirtilmiştir. Tüm eGFR hesaplamaları mL/dk/1,73 m² cinsinden sunulmuştur. *eGFR>90 olan 4 hastada hesaplanmıştır. ⁺ Mann Whitney U testi.

Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 ml/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan hastaların tam kan sayımına ait parametreler değerlendirildiğinde anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Karaciğer fonksiyon testlerine bakıldığında ise ALP, eGFR <90 ml/dk/1,73 m² olan hastalarda anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur [85 (71-152) ve 234 (139-280), p=0,011]. Diğer karaciğer fonksiyon testlerinden ALT, AST, GGT, direkt ve indirekt bilirubin arasında anlamlı bir farklılık gösterilememiştir (Tablo 4.38).

Tablo 4.38. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan hastaların tam kan sayımı ve karaciğer fonksiyon testlerinin karşılaştırılması

	eGFR >90 (n=8)	eGFR <90 (n=7)	P*
Hemoglobin (g/dL)	13,70 (12,13-15,13)	13,10 (12,30-14,20)	0,643
WBC (x10 ³ /µL)	7,04 (5,89-11,92)	8,87 (7,65-9,30)	0,132
Lenfosit (x10 ³ /µL)	2,20 (1,94-3,98)	3,31 (3,01-4,38)	0,203
Nötrofil (x10 ³ /µL)	3,96 (3,07-5,86)	4,87 (3,67-5,09)	0,728
Trombosit (x10 ³ /µL)	340 (229-482)	428 (279-517)	0,524
ALT (U/L)	22 (11-38)	12 (11-16)	0,147
AST (U/L)	32,0 (20,0-34,5)	27 (21-29)	0,417
ALP (U/L)	85 (71-152)	234 (139-280)	0,011
GGT (U/L)	18,0 (15,3-18,8)	13,0 (10,0-17,0)	0,063
Direkt bilirubin (mg/dL)	0,11 (0,06-0,14)	0,10 (0,06-0,14)	0,954
İndirekt bilirubin (mg/dL)	0,43 (0,26-0,52)	0,39 (0,28-0,62)	0,772

Değerler ortanca (Q1-Q3) olarak belirtilmiştir. Tüm eGFR hesaplamaları mL/dk/1,73 m² cinsinden sunulmuştur. * Mann Whitney U testi. ALT: Alanin aminotransferaz, ALP: Alkalen fosfataz, AST: aspartat aminotransferaz, GGT: Gama glutamil transferaz, WBC: Beyaz küre sayısı

Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 ml/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan hastaların böbrek fonksiyon testlerinin karşılaştırılmıştır (Tablo 4.39). Serum fosfor düzeyi, eGFR<90 olan grupta anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur [3,36 (3,06-4,24) ve 4,51 (3,74-4,98), p=0,021]. Serum elektrolitleri, ürik asit, albümin, protein, kreatinin ve kan üre azotu ölçümleri arasında anlamlı bir farklılık yoktur.

Tablo 4.39. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan hastaların böbrek fonksiyon testlerinin karşılaştırılması

Serum parametreleri	eGFR >90 (n=8)	eGFR <90 (n=7)	P*
Sodyum (mEq/L)	141,5 (140,3-142,0)	141 (140-141)	0,335
Potasyum (mEq/L)	4,45 (4,03-4,65)	4,30 (4,00-4,70)	0,862
Klor (mEq/L)	104 (103-106)	105 (103-108)	0,480
Kalsiyum (mg/dL)	10,07 (9,58-10,20)	9,95 (9,85-10,31)	0,563
Fosfor (mg/dL)	3,36 (3,06-4,24)	4,51 (3,74-4,98)	0,021
Magnezyum (mg/dL)	2,23 (1,97-2,41)	2,13 (2,07-2,44)	0,816
Albumin (g/dL)	4,63 (4,39-4,78)	4,33 (4,30-4,88)	0,643
Protein (g/dL)	7,78 (7,23-7,93)	7,38 (7,26-7,60)	0,298
Ürik asit (mg/dL)	3,35 (2,90-4,20)	3,20 (2,90-3,90)	0,642
Kreatinin (mg/dL)	0,50 (0,40-0,73)	0,42 (0,38-0,52)	0,524
Üre azotu (mg/dL)	8,15 (6,63-12,10)	11,40 (10,60-12,00)	0,183

Değerler ortanca (Q1-Q3) olarak belirtilmiştir. Tüm eGFR hesaplamaları mL/dk/1,73 m² cinsinden sunulmuştur. * Mann Whitney U testi.

Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan hastaların venöz kan gazı değerlerinde pH, laktat, bikarbonat ve parsiyel karbondioksit basınçları karşılaştırılmıştır (Tablo 4.40). Bu değerler arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.

Tablo 4.40. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan hastaların venöz kan gazı parametrelerinin karşılaştırılması

	eGFR >90 (n=8)	eGFR <90 (n=7)	P*
pH	7,33 (7,28-7,36)	7,33 (7,27-7,37)	0,862
Laktat (mmol/L)	3,50 (2,03-5,73)	3,40 (1,90-5,40)	0,685
Bikarbonat (mmol/L)	23,45 (19,90-24,90)	22,50 (21,20-23,40)	0,908
pCO ₂ (mmHg)	55,83 (47,45-55,83)	49,0 (41,9-55,8)	0,487

Değerler ortanca (Q1-Q3) olarak belirtilmiştir. Tüm eGFR hesaplamaları mL/dk/1,73 m² cinsinden sunulmuştur. * Mann Whitney U testi.

Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si normal ve düşük olan hastaların kreatinine göre eGFR'leri arasında anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 4.41).

Tablo 4.41. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan hastaların diğer eGFR formülleri ile karşılaştırılması

	eGFR >90 (N=8)	eGFR <90 (N=7)	P*
Kreatinine göre eGFR	131 (116-132)	115 (106-122)	0,132
Kreatinin ve Sistatin C'ye göre eGFR	116 (108-129)	94 (87-101)	0,003
Sistatin C'ye göre eGFR	110 (105-125)	81 (78-86)	0,001

Değerler ortanca (Q1-Q3) olarak belirtilmiştir. Tüm eGFR hesaplamaları mL/dk/1,73 m² cinsinden sunulmuştur. * Mann Whitney U testi.

Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan hastaların spot idrar tetkiklerden bakılan kreatinin, albümin, protein, albümin:kreatinin, protein:kreatinin, sodyum, potasyum, klor, magnezyum, kalsiyum ve kalsiyum:kreatinin değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Hesaplanan fraksiyonel sodyum ekskresyonları ve tübüler fosfor reabsorpsiyonlarında da eGFR grupları arasında anlamlı bir farklılık yoktur. (Tablo 4.42).

Tübüler hasarı gösteren biyobelirteçlerin iki grup arasında değerlendirmeleri yapılmıştır (Tablo 4.43). Bakılan KIM1, NGAL, UMOD, B2MG ve bunların kreatinine göre normalize edilmiş düzeyleri arasında eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan hasta gruplarında anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan hastaların mevcut metabolik tetkiklerinden karnitin, glutarilkarnitin, glutarik asit ve 3-OH glutarik asit düzeyleri karşılaştırılmış ve aralarında anlamlı bir farklılık gösterilememiştir (Tablo 4.44).

Tablo 4.42. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan hastaların spot idrar tetkiklerinin karşılaştırılması

İdrar parametreleri	eGFR >90 (n=8)	eGFR <90 (n=7)	P*
Kreatinin (mg/dL)	128,50 (55,00-240,25)	116 (98-123)	0,562
Albümin (mg/dL)	1,47 (0,69-5,54)	1,11 (0,72-7,41)	0,817
Protein (mg/dL)	22,45 (15,08-27,10)	18,70 (9,70-25,30)	0,487
Albümin:kreatinin (mg/g)	12,417 (7,722-21,739)	12,198 (5,846-63,879)	0,908
Protein:kreatinin (mg/mg)	0,172 (0,091-0,296)	0,150 (0,106-0,226)	0,817
Sodyum (mEq/L)	162,5 (108,0-190,5)	189 (140-209)	0,324
Potasyum (mEq/L)	64,50 (49,00-78,75)	98 (43-124)	0,247
Klor (mEq/L)	179,00 (92,50-217,25)	245 (164-318)	0,082
Magnezyum (mg/dL)	12,35 (7,69-22,59)	14,60 (10,59-16,51)	0,487
Kalsiyum (mg/dL)	14,04 (8,27-18,91)	9,09 (6,41-17,63)	0,418
Fosfor (mg/dL)	61,03 (34,32-72,82)	40,50 (32,56-102,07)	1,000
Kalsiyum:kreatinin (mg/mg)	0,171 (0,054-0,244)	0,079 (0,065-0,143)	0,728
FeNa (%)	0,550 (0,193-1,120)	0,54 (0,36-0,86)	0,817
TRP (%)	94,00 (90,25-95,75)	93 (92-96)	0,953

Değerler ortanca (Q1-Q3) olarak belirtilmiştir. Tüm eGFR hesaplamaları mL/dk/1,73 m² cinsinden sunulmuştur. * Mann Whitney U testi. FeNa: Fraksiyonel sodyum ekskresyonu, TRP: tübüler fosfor reabsorbsiyonu

Tablo 4.43. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan hastaların spot idrardan alınan tübüler biyobelirteçlerinin karşılaştırılması

	eGFR >90 (n=8)	eGFR <90 (n=7)	P*
B2MG (ng/mL)	161,5 (83,0-217,5)	118,0 (82,6-247,0)	1,000
B2MG:kreatinin (ng/mg)	112,25 (64,66-191,41)	129,670 (67,61-200,81)	0,817
KIM1 (ng/mL)	0,224 (0,075-0,539)	0,333 (0,138-0,533)	0,643
KIM1:kreatinin (ng/mg)	0,188 (0,080-0,400)	0,245 (0,124-0,437)	0,643
NGAL (ng/mL)	34,700 (9,225-276,250)	13,0 (5,7-64,5)	0,271
NGAL:kreatinin (ng/mg)	15,439 (8,872-383,106)	10,407 (6,264-55,603)	0,487
UMOD (ng/mL)	6,715 (1,798-22,053)	11,62 (4,75-13,75)	0,418
UMOD:kreatinin (ng/mg)	3,442 (2,651-22,642)	9,447 (5,220-11,853)	0,563

Değerler ortanca (Q1-Q3) olarak belirtilmiştir. Tüm eGFR hesaplamaları mL/dk/1,73 m² cinsinden sunulmuştur. * Mann Whitney U testi. B2MG: Beta-2 mikroglobulin, KIM1: *Kidney injury molecule-1*, NGAL: *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin*, UMOD: Uromodulin

Tablo 4.44. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan hastaların mevcut metabolik tetkikleri ile karşılaştırılması

	eGFR >90 (n=8)	eGFR <90 (n=7)	P*
Mevcut karnitin	44,91 (40,63-53,32)	36,40 (13,87-68,69)	0,563
Mevcut glutarilkarnitin	2,45 (1,32-3,68)	2,91 (2,77-6,26)	0,203
Mevcut idrar GA atılımı	18,65 (2,25-75,60)	28,80 (10,40-88,80)	0,562
Mevcut idrar 3-OH-GA atılımı	0,17 (0,00-0,77)	0,50 (0,00-1,30)	0,626

Değerler ortanca (Q1-Q3) olarak belirtilmiştir. Tüm eGFR hesaplamaları mL/dk/1,73 m² cinsinden sunulmuştur. * Mann Whitney U testi. Karnitin ve glutarilkarnitin düzeyleri kuru kanda mikromol/L, glutarik asit ve 3-OH glutarik asit düzeyleri idrarda iç standartın katı cinsinden verilmiştir.

İki grup arasındaki US verileri değerlendirilmiştir. Sağ böbrek US ve Doppler incelemelerinden elde edilen RI, PI, ilyak arter ivme, ilyak arter ivme zamanı, renal arter akım hızı, renal arter ivme ve renal arter ivme zamanı değerleri arasında anlamlı bir farklılık yoktur (Tablo 4.45). Renal ven akım hızları ise eGFR >90 mL/dk/1,73 m² olan grupta anlamlı olarak daha yüksektir [(27,50 (24,50-29,75) ve 20,00 (18,00-23,00)), p=0,006]

Sol böbrek US ve Doppler incelemelerinden elde edilen RI, PI, ilyak arter ivme, ilyak arter ivme zamanı, renal arter akım hızı, renal arter ivme ve renal arter ivme zamanı değerleri arasında anlamlı bir farklılık yoktur (Tablo 4.46). Renal ven akım hızları ise eGFR >90 mL/dk/1,73 m² olan grupta anlamlı olarak daha yüksektir [(26,00 (22,2-28,75) ve 20,00 (18,50-21,25)), p=0,008]

Tablo 4.45. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan hastaların sağ renal US ve Doppler US verilerinin karşılaştırılması

Sağ böbrek	eGFR >90 (n=8)	eGFR <90 (n=7)	P ⁺
İlyak arter Resistive Index (RI)	0,61 (0,59-0,66)	0,61 (0,52-0,67)	0,907
İlyak arter Pulsatility Index (PI)	0,87 (0,83-0,98)	0,87 (0,69-1,01)	0,862
İlyak arter ivme (cm/sn ²)	1164 (956-1784)	1353 (919-1876)	0,817
İlyak arter ivme zamanı (msn)	11,00 (7,00-20,25)	7,00 (7,00-15,00)	0,521
Renal arter akım hızı (cm/sn)*	73,50 (61,75-82,25)	92,00 (69,00-108,25)	0,156
Renal arter ivme (cm/sn ²)*	3858 (3167-4934)	3451 (1490-5481)	0,796
Renal arter ivme zamanı (msn)*	11,00 (7,00-15,00)	15,00 (13,00-23,75)	0,242
Renal ven akım hızı (cm/sn)	27,50 (24,50-29,75)	20,00 (18,00-23,00)	0,006

Değerler ortanca (Q1-Q3) olarak belirtilmiştir. Tüm eGFR hesaplamaları mL/dk/1,73 m² cinsinden sunulmuştur. *eGFR<90 olan 6 hastada hesaplanmıştır. ⁺ Mann Whitney U testi.

Tablo 4.46. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan hastaların sol renal US ve Doppler US verilerinin karşılaştırılması

Sol böbrek	eGFR >90 (n=8)	eGFR <90 (n=7)	P⁺
İlyak arter Resistive Index (RI)	0,60 (0,58-0,62)	0,58 (0,53-0,70)	1,000
İlyak arter Pulsatility Index (PI)	0,86 (0,82-0,89)	0,82 (0,72-1,08)	0,908
İlyak arter ivme (cm/sn ²)	1760 (1118-2891)	1060 (762-1060)	0,165
İlyak arter ivme zamanı (msn)	7 (7-15)	15 (7-22)	0,374
Renal arter akım hızı (cm/sn)*	70,00 (67,25-78,75)	82,00 (76,25-92,50)	0,053
Renal arter ivme (cm/sn ²)*	4205 (1966-6140)	2381 (1295-3946)	0,197
Renal arter ivme zamanı (msn)*	11,00 (7,00-20,25)	22,00 (13,00-32,75)	0,108
Renal ven akım hızı (cm/sn)*	26,00 (22,2-28,75)	20,00 (18,50-21,25)	0,008

Değerler ortanca (Q1-Q3) olarak belirtilmiştir. Tüm eGFR hesaplamaları mL/dk/1,73 m² cinsinden sunulmuştur. *eGFR<90 olan 6 hastada hesaplanmıştır. + Mann Whitney U testi.

Özetlenecek olursa; eGFR ölçümlerine göre, eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında olan hastaların BGVA, serum fosfor ve ALP değerleri daha yüksek, sağ ve sol renal ven akım hızları ise daha yavaş bulunmuştur (Tablo 4.47).

Tablo 4.47. Sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan hastaların istatistiksel olarak anlamlı (P<0,05) bulunan farklılıkları

	eGFR >90 (n=8)	eGFR <90 (n=7)	P⁺
Boya göre vücut ağırlığı (%) *	76 (71,25-82,25)	100 (82-109)	0,047
Fosfor (serum) (mg/dL)	3,35 (3,06-4,23)	4,51 (3,74-4,98)	0,021
ALP (U/L)	85 (70,75-151,5)	234 (139-280)	0,011
Sistatin C (g/dL)	0,69 (0,63-0,79)	0,86 (0,81-0,91)	0,011
Kreatinin ve sistatin C'ye göre eGFR	116 (107,5-128,75)	94 (87-101)	0,030
Sağ renal ven akım hızı (cm/sn)	27,5 (24,5-29,75)	20 (18-23)	0,006
Sol renal ven akım hızı (cm/sn)	26 (22,25-28,75)	20 (18,5-21,25)	0,008

Değerler ortanca (Q1-Q3) olarak belirtilmiştir. Tüm eGFR hesaplamaları mL/dk/1,73 m² cinsinden sunulmuştur. *eGFR>90 olan 4 hastada hesaplanabilmiştir. + Mann Whitney U testi.

4.7. Nörolojik Tutulumu Göre Değerlerin Karşılaştırılması

Hastalar nörolojik tutulumlarına göre iki gruba ayrılarak karşılaştırmalı analizler yapılmıştır. Buna göre ağır zihinsel yetersizliği olan, kontraktürleri bulunan ve desteksiz yürüyemeyen hastalar ağır nörolojik etkilenmiş, diğer hastalar ise hafif nörolojik etkilenmiş olarak değerlendirilmiştir. Bir yaştan altındaki bir hasta (Hasta #12), yürüme henüz yaş itibarıyla değerlendirilemediğinden bu gruplara dahil edilmemiştir.

Yapılan analizlerde ağır nörolojik etkilenmesi olan hastalarda yapay ve toplam günlük protein alımı anlamlı olarak daha yüksek; YGVA z skoru, YGB z skoru, BGVA yüzdesi, VKİ ve VKİ z skoru anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (Tablo 4.48).

Ağır nörolojik etkilenmesi olan hastalarda malnütrisyon anlamlı olarak daha fazla görülmüştür. Hafif ve ağır nörolojik etkilenme ile sistatin C'ye göre eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan gruplar birbirleri ile karşılaştırıldığında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Tablo 4.49).

Tablo 4.48. Nörolojik etkilenme durumuna göre protein alımlarının ve konstitüsyonel parametrelerin karşılaştırılması

	Hafif nörolojik etkilenme (n=9)	Ağır nörolojik etkilenme (n=6)	P ⁺
Yapay protein alımı (g/kg/gün)	0,10 (0,00-0,34)	0,69 (0,61-0,81)	0,002
Toplam protein alımı (g/kg/gün)	0,97 (0,84-1,17)	1,52 (1,27-1,66)	0,006
YGVA z skoru *	-0,37 (-1,25 – (0,34))	-6,25 (-15,84 – (-4,66))	0,006
YGB z skoru *	-1,02 (-2,05 – (0,57))	-4,65 (-6,94 – (-3,99))	0,006
BGVA (%) *	104 (94-118)	76 (72-82)	0,006
VKİ (kg/m²)	19,6 (16,2-20,8)	11,9 (11,1-12,9)	0,001
VKİ z skoru *	0,21 (-0,55 – (0,60))	-5,22 (-7,48 – (-3,71))	0,006

BGVA: Boya göre vücut ağırlığı, VKİ: Vücut kitle endeksi, YGB: Yaşa göre boy, YGVA: Yaşa göre vücut ağırlığı *Hafif nörolojik etkilenmesi olan 5 hastadan bakılabilmektedir. ⁺ Mann Whitney U testi.

Tablo 4.49 Nörolojik etkilenme durumu ile malnütrisyon ve sistatin C'ye göre eGFR

	Hafif nörolojik etkilenme (n=9)	Ağır nörolojik etkilenme (n=6)	P*
Malnütrisyon durumu	1 (%11)	6 (%100)	0,001
Sistatin C'ye göre eGFR<90	5 (%56)	2 (%33)	0,608

eGFR mL/dk/1,73 m² cinsinden sunulmuştur. *Fisher kesin testi

Hafif ve ağır nörolojik etkilenen grupların böbrek işlevlerinin değerlendirilmesi Tablo 4.50'de gösterilmiştir. Ağır nörolojik etkilenmesi olan hastaların BUN ve sistatin C düzeyleri anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. Ancak eGFR hesaplamalarında iki grup arasında anlamlı bir farklılık yoktur. Tübüler belirteçlerden B2MG:kreatinin ve KIM1:kreatinin oranları ağır nörolojik etkilenmesi olan hastalarda anlamlı olarak daha yüksektir. Boya göre bakılan böbrek uzunluk persentilleri her iki böbrek için de ağır nörolojik tutulumu olan hastalarda daha düşük saptanmıştır.

Tablo 4.50. Nörolojik etkilenme durumuna göre böbrek işlevleri

	Hafif nörolojik etkilenme (n=9)	Ağır nörolojik etkilenme (n=6)	P⁺
Serum kreatinin (mg/dL)	0,54 (0,40-0,76)	0,42 (0,39-0,47)	0,14
Kan üre azotu (mg/dL)	11,4 (9,4-12,6)	7,8 (6,4-11,0)	0,039
Sistatin C (mg/L)	0,86 (0,78-0,91)	0,68 (0,63-0,82)	0,034
Kreatinine göre eGFR	130 (111-133)	116 (112-127)	0,376
Kreatinin ve Sistatin C'ye göre eGFR	109 (91-129)	106 (99-113)	0,813
Sistatin C'ye göre eGFR	89 (79-124)	103 (86-109)	0,637
Spot idrar protein:kreatinin (mg/mg)	0,142 (0,084-0,183)	0,217 (0,135-0,327)	0,068
Spot idrar albümin:kreatinin (mg/g)	12,20 (6,21-51,90)	12,42 (7,15-29,70)	0,906
Spot idrar B2MG:kreatinin (ng/mg)	67,7 (56,7-148,5)	185,0 (108,1-278,3)	0,045
Spot idrar KIM1:kreatinin (ng/mg)	0,170 (0,085-0,224)	0,403 (0,315-0,722)	0,025
Spot idrar NGAL:kreatinin (ng/mg)	9,56 (7,51-17,06)	91,67 (9,48-515,11)	0,099
Spot idrar UMOD:kreatinin (ng/mg)	3,51 (2,40-9,30)	15,79 (7,93-32,39)	0,059
Boya göre sağ böbrek uzunluk persentili	4,00 (4,00-6,50)	1,50 (1,00-3,25)	0,005
Boya göre sol böbrek uzunluk persentili*	5,00 (3,00-6,00)	2,00 (1,50-3,00)	0,036

B2MG: Beta-2 mikroglobulin, KIM1: *Kidney injury molecule-1*, NGAL: *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin*, UMOD: Uromodulin. Tüm eGFR hesaplamaları mL/dk/1,73 m² cinsinden sunulmuştur. Böbreklerin boya göre uzunluk persentilleri <2.5p, 2.5-10p, 10-25p, 25-50p, 50-75p, 75-90p, 90-97.5p, >97.5p olarak gruplandırılarak değerlendirilmiştir. *Ağır nörolojik tutulumu olan 5 hastadan bakılabilmektedir. ⁺ Mann Whitney U testi

5. TARTIŞMA

5.1. Hastaların Genel Özellikleri

Glutarik asidüri tip 1 için tanı anındaki yaşla ilgili farklı çalışmalarda farklı sonuçlar bildirilmiştir. Ülkemizden Çukurova Üniversitesinde 41 GA1 hastasının değerlendirildiği çalışmada ortalama tanı yaşı $14,8 \pm 13,9$ ay olarak bulunmuştur (44). Yakın zamanda ülkemizde yapılan başka bir çalışmada, 25 GA1 hastasının ortalama tanı yaşı $28,4 \pm 41,6$ ay olarak bildirilmiştir (100). Merkezimizde 2020 yılında yapılan çalışmada ise; 53 GA1 hastasının ortalama tanı yaşı $48,5 \pm 72,8$ ay olarak saptanmıştır (27). İrlanda’da gerçekleştirilen bir çalışmada ise hastalar yenidoğan taraması ile tanı alanlar ve klinik bulgular ile tanı alanlar olarak iki grupta incelenmiş; yenidoğan taraması ile tanı alanlar grubunda ortalama tanı yaşı 4 (3-40) gün, klinik bulgular ile tanı alan grupta ise ortalama tanı yaşı 407 (203-668) gün olarak gösterilmiştir (101). Başka bir meta-analizde 647 GA1 hastasının verileri değerlendirilmiş, yenidoğan taraması ile tanı alan grupta ortalama tanı yaşı 7 gün, yenidoğan taraması olmayan ve klinik bulgular ile tanı konulan grupta ise ortalama tanı yaşı 13,4 ay olarak bildirilmiştir (46). Çalışmamızda ortalama tanı yaşı 12,36 (5,64-33,84) ay olarak görülmüştür. Tanının yaklaşık 1 yaş sonrasında konulmuş olması açısından çalışmamız, Türkiye verileri ile örtüşmektedir. Ayrıca yurtdışında yapılan çalışmalarda, klinik bulgular ile tanı alan hasta gruplarının tanı yaşları ülkemiz verileri ile benzerdir. Bu noktada dikkat çeken unsurlardan biri de yenidoğan taramasının tanı yaşını dramatik bir şekilde düşürmüş olmasıdır. Glutarik asidüri tip 1, birçok ülkenin yenidoğan tarama programında yer almaktadır. Avrupa’da yapılan ve 51 ülkenin verilerinin değerlendirildiği bir çalışmada, GA1’in 24 ülkenin yenidoğan tarama programında yer aldığı bildirilmiştir (38). Yenidoğan taraması ile erken tanı konan hastalarda, geri dönüşümsüz striatal hasara bağlı nörolojik etkilenmenin önlenmesi ve asemptomatik bir hastalık seyri sağlanabileceği gösterilmiştir (1). Sistemik literatür taraması yapılarak 647 GA1 hastasının verilerinin değerlendirildiği bir çalışmada; yenidoğan taraması ile tanı alan GA1 hastalarının %25,3’ünde hareket bozukluğu saptanırken, yenidoğan taraması dışında tanı alan grupta ise hareket bozukluğu belirgin olarak daha sık (%90,4) bulunmuştur (46). Tüm bu bilgiler ışığında ülkemizde GA1’in ulusal yenidoğan tarama programında yer alması gerektiği görülmektedir.

‘‘High ve low excretor’’ (HE ve LE) biyokimyasal fenotipindeki hastalar arasında çeşitli farklılıklar bildiren çalışmalar bulunmaktadır. Sıklık açısından, çalışmamızdaki hastaların %88’i (14/16) HE biyokimyasal fenotipindeyken, merkezimizde bir başka çalışmada da HE grubu %91 (48/53) oranında görülmüştür (27). Almanya merkezli bir çalışmada ise HE %75, LE ise %23 oranında görülmüştür (47). İdrarda yüksek GA konsantrasyonuna sahip olan HE hastalarında, LE hastalarına göre baş çevresinin daha geniş, beyin MRG bulgularından subdural hematoma görülme riskinin daha fazla ve gelişim düzeylerinin daha geride olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (47, 102, 103). Çalışmamızdaki 14 HE hastanın 9’unda (%64), 2 LE hastanın birinde (%50) makrocefali olması ve subdural hematoma saptanan 2 hastanın da HE grubunda olması literatür verileri ile uyumludur. Ancak çalışmamızda 14 HE hastanın 5’inde (%36) ağır zihinsel yetersizlik görülürken, 2 LE hastanın ikisinde de ağır zihinsel yetersizlik mevcuttur. Bu açıdan değerlendirildiğinde LE grubunun bilişsel olarak daha iyi seyir göstermesi çalışmamızda görülmemiştir.

Genetik analizler incelendiğinde, çalışmamızda GCDH geninde en sık değişiklik c.1204C>T (p.Arg402Trp) olarak görülmüştür. Bu genetik değişiklik ülkemizde yapılan bir başka çalışmada da GA1 hastalarında en sık görülen değişiklik olarak bildirilmiştir (100). Aynı çalışmada ikinci en sık görülen değişiklik c.1018C>T (p.Leu340Phe) olup çalışmamızda ise bir hastada saptanmıştır. Bu genetik değişiklik tanı anında idrarda daha yüksek glutarik asit ve 3-OH glutarik asit düzeyleri ile ilişkili bulunmuştur (100). Çalışmamızdaki c.1018C>T (p.Leu340Phe) genetik değişikliğine sahip hastada da tanı anındaki idrar glutarik asit ve 3-OH glutarik asit düzeyleri diğer hastalardan daha yüksek saptanmıştır.

Nörolojik bulgular değerlendirildiğinde; Danimarka, Finlandiya, Norveç ve İsveç’te, GA1’in yenidoğan taramasında yer almadığı dönemde - 1975 ile 2001 yılları arasında - tanı konulan 28 hastanın nörolojik durumlarının değerlendirildiği bir çalışmada, hastaların 20’sinde (%71) distoni görülmüştür (104). Ülkemizdeki bir çalışmada ise hastaların %92’sinde aksiyel hipotoni, %80’inde periferik spastisite ve %68’inde epilepsi bildirilmiştir (44). Çalışmamızda aksiyel distoni ve/veya ekstremitte distonisi görülen hasta sayısı ise sekizdir (%50). Distoni tedavisinde en sık kullanılan ilaçlar baklofen ve benzodiazepinlerdir (29). Çalışmamızdaki hastalar da distoniye yönelik baklofen tedavisi almakta idi. Yenidoğan taraması ile tanı alıp erken tedavi

başlanan hastalarda epilepsi sıklığında artış gözlenmezken semptomatik hastalarda epilepsi prevalansı artmıştır (29). Çalışmamızda da en sık görülen nörolojik bulgu epilepsi idi (n=9, %56). Yenidoğan taramasının asemptomatik hastalık izlemi ile ilişkisi göz önünde bulundurulduğunda, çalışmamızın nörolojik verilerinin değerlendirilmesinde, yenidoğan taraması dışında tanı alınan hasta gruplarına ait bilgilerle karşılaştırılması uygun görülmüştür.

Nöroradyolojik görüntülemeler, GA1 için yönlendirici olabilir. Kılavuzlar nörolojik semptomların ortaya çıkması veya belirgin şekilde kötüleşmesi durumunda tüm yaş gruplarında nöroradyolojik inceleme yapılmasını önermektedir. On dört GA1 hastasının beyin MRG bulgularının değerlendirildiği bir çalışmada; hastaların 13'ünde (%93) frontotemporal atrofi veya genişleme, 9'unda (%64) striatum tutulumu ve ikisinde (%14) subdural hematoma saptanmıştır (105). Yirmi dokuz GA1 hastasının beyin MRG'sinin değerlendirildiği başka bir çalışmada ise frontotemporal atrofi %100, globus pallidus tutulumu %64, subdural hematoma ise %34 sıklıkta tespit edilmiştir (106). Çukurova Üniversitesinin çalışmasında ise 34 hastanın beyin MRG'lerine bakıldığında frontotemporal atrofi %100, miyelinizasyon gecikmesi ve subdural kanama %53 oranında bulunmuştur. Çalışmamızdaki beyin MRG bulgularına baktığımızda, en sık frontotemporal atrofi/genişleme ve striatum tutulumu (n=8, %67) görülmektedir. Frontotemporal atrofi literatür verilerinden daha az sıklıkla tespit edilmekle beraber striatum tutulumunun sıklığı literatür verileri ile örtüşmektedir.

Glutarik asidüri tip 1'in tedavisinde diyet önemli bir yer tutar. Diyet tedavisinin temel ilkesi lizinden fakir beslenmedir. Kılavuz önerilerine göre tüm hastalara düşük lizimli diyet, 6 yaşından küçük hastalarda da yeterli protein alımını sağlamak için, lizin içermeyen, triptofandan fakir ve arjininle zenginleştirilmiş amino asit karışımlarının ilave olarak uygulanması tavsiye edilir. Yapay amino asit alımı için farklı yaş gruplarında farklı öneriler mevcuttur. Örneğin 4-6 yaş arasındaki GA1 hastalarında önerilen yapay protein alımı 0,8 g/kg/gün şeklindedir. 6 yaş sonrasında ise düşük lizin diyeti, düşük lizin içeriğine sahip doğal protein kullanılarak ve lizin açısından zengin yiyeceklerden kaçınılarak 'protein kontrollü diyet' şeklinde değiştirilebilir (29). Çalışmamızda da bu şekilde yapay protein alımı olmayan 4 hasta vardı. Yapay protein alımları ise 0,10-0,83 g/kg/gün arasında idi.

Karnitin, GA1'in temel ilacıdır. Tedavi başlangıcında önerilen karnitin dozu 100 mg/kg/gün olup, 6 yaş sonrasındaki kullanımlarda önerilen doz 30-50 mg/kg/gündür (29). Çalışmamızdaki hastaların günlük karnitin kullanımları 30-117 mg/kg arasında ve kılavuz önerileri ile uyumlu idi. İlaç tedavisinde riboflavinin yeri ise tartışmalıdır. Riboflavinin GA1 tedavisinde idrarda GA ve 3OHGA atılımını azalttığı görülmekle birlikte, hastalığın klinik seyrinde bir değişiklik olmadığını bildiren çalışmalar vardır (4, 107). Her ne kadar kılavuzlarda kullanımı ile ilgili kesin bir ifade olmasa da çalışmamızdaki hastaların 14'ü (%88) riboflavin kullanmaktaydı.

Märtner ve ark. (47) tarafından yapılan ve GA1 hastalarının uzun dönem antropometrik ölçümlerinin değerlendirildiği çok merkezli çalışmada, tedavi uyumu ile adölesan dönemine kadar normal antropometrik büyümenin sağlandığı, proteinden fakir diyet verilmesinin büyümeyi etkilemediği gösterilmiştir. Bu çalışmada vücut ağırlığı (ortalama z skor $-0,09 \pm 1,38$), vücut uzunluğu (ortalama z skor $-0,32 \pm 1,29$) ve VKİ (ortalama z skor $0,13 \pm 1,27$) yaşa uygun referans aralıklarında bulunmuştur. Bununla birlikte, akut ensefalopatik kriz tedavisinin gecikmesi veya ciddi hareket bozukluğu durumlarında antropometrik ölçümlerin etkilendiği saptanmıştır. Ülkemizdeki bir çalışmaya baktığımızda ise, GA1 hastalarının ilk fizik muayenelerinde malnütrisyon ve büyüme geriliği %17 oranında bildirilmiştir (44). Yine ülkemizde yapılan başka bir çalışmada 25 GA1 hastasının 5'inde (%20) büyüme geriliği görülmüş ve bu hastaların 4'ünde büyüme geriliğinin hastalık izleminde geliştiği bildirilmiştir (100). Çalışmamızda 16 hastanın yarısında malnütrisyon mevcut olup 12 çocuk hastanın 7'sinde büyüme geriliği vardır. Çalışma grubumuzdaki antropometrik ölçümlerin, literatür verilerine kıyasla daha kötü sonuçlar vermesi, tekrarlayan ataklar ile kötüleşen nörolojik durumları ve beslenme yetersizliği ile ilişkili olabilir. Aynı zamanda 2 yaşın üzerindeki bazı hastaların antropometrik ölçümleri yatarak yapıldığından sonuçların ölçüm hatalarına açık olabileceği akılda tutulmalı ve elde edilen ölçümler standart eğrilere göre yorumlanırken dikkatli olunmalıdır. Yapılan korelasyon analizinde YGB ve YGVA z skorlarının, tanı sonrası geçirilen atak sayısına bağlı olarak düştüğü gösterilmiştir ($p = -0,641$, $p = 0,025$ ve $p = -0,658$, $p = 0,020$). Benzer şekilde ağır nörolojik tutulumu olan hastalarda YGVA z skoru ($p = 0,006$), YGB z skoru ($p = 0,006$), BGVA yüzdesi ($p = 0,006$), VKİ ($p = 0,001$) ve VKİ z skoru ($p = 0,006$) anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. Ağır nörolojik

etkilenmesi olan hastalarda malnütrisyon anlamlı olarak daha fazla görülmüştür ($p=0,001$). Çalışmadaki hastaların VKİ z skorları ve BGVA yüzdeleri ile yapay protein alımları arasında negatif bir korelasyon bulunmuş olması ($\rho = -0,704$; $p=0,011$ ve $\rho = -0,737$; $p=0,006$) da diyet tedavisinin malnütrisyon açısından önemini göstermektedir.

Tüm bu özellikler göz önünde bulundurulduğunda çalışmamıza katılan hastaların merkezimizde, ülkemizde ve diğer ülkelerde yenidoğan taraması ile değil, sonradan semptomatik olarak tanı alınmış, bir kısmının durumu ağır olmakla birlikte nörolojik durumları değişken bir GA1 hastaları popülasyonunu yansıtabileceği söylenebilir.

Çalışma kapsamında erişkin yaş grubundaki 4 hastanın 24 saatlik ambulatuvar kan basıncı izlemi yapılmıştır. Bu hastalardan birinde hipertansiyon saptanmıştır, normal sonuçları olan hastalardan biri ise proteinüri nedeniyle antihipertansif tedavi (ACE inhibitörü) almaktadır. Bu sonuçlara bakıldığında erişkin yaş grubundaki GA1 hastalarında 24 saatlik ambulatuvar kan basıncı ölçümlerinin yapılması faydalı olabilir.

5.2. Böbrek İşlevleri

Glutarik asidüri tip 1 tanılı hastalarda 6 yaşından sonra böbrek işlevleri açısından yıllık kreatinin ve/veya sistatin C bakılarak eGFR hesaplanması, tam idrar tetkiki alınması önerileri izlem kılavuzlarında yer almaktadır. Nutrisyonel ve metabolik durum ile kemik metabolizması değerlendirmesi için tam kan sayımı, kalsiyum, fosfor, albümin, karaciğer enzimleri, parathormon, ferritin, vitamin B₁₂ ve ALP ölçümleri ise büyüme geriliği, malnütrisyon, beslenme problemleri gibi klinik anormalliklerde önerilmektedir (29).

Glutarik asidüri tip 1'de kronik böbrek hastalığı görülebileceği son yıllarda anlaşılmıştır. Böbrek işlevlerinin değerlendirilmesinde kreatinine göre eGFR hesaplanması mevcut çalışmalarda temel alınmıştır (1, 6). Serum ve idrar elektrolitleri, sistatin C, tübüle özgül belirteçler (B2MG, KIM1, NGAL, UMOD), renal ve Doppler US, sistolik ve diyastolik kan basıncı gibi böbrek işlevlerini değerlendirmede kullanılabilecek olan diğer tetkiklerle ilgili yeterli çalışma yoktur.

Çalışmamızda böbrek işlevleri detaylı bir şekilde araştırılmış; eGFR farklı parametrelerle hesaplanmış, elektrolit düzeyleri alınmış, glomerüler ve tübüler işlevler

için gerekli tetkiklere bakılmış, ultrasonografik incelemeler yapılmıştır. Bu açıdan çalışmamız GA1 hastalarının kapsamlı olarak böbrek işlevlerinin değerlendirildiği ilk çalışmadır. Bakılan serum ve idrar elektrolitleri, kan üre azotu, ürik asit gibi tetkikler normal aralıklarda saptanmıştır.

Hızlı ve kolay hesaplanabilir olması nedeniyle eGFR, böbrek işlevlerinin değerlendirilmesindeki temel parametredir. Hesaplanmasında en sık kullanılan değer serum kreatinin düzeyidir. Glutarik asidüri tip 1'deki böbrek hasarının tespit edilmesinde mevcut çalışmalarda kreatinin kullanılmıştır. Ancak serum kreatinin düzeyleri kas kütlesinden etkilenir. Bu nedenle daha az kas kütlesine sahip kişilerin kreatinin düzeylerinin düşük olmasına bağlı olarak eGFR yalancı yüksek tespit edilebilir (55). Bu durum diğer organik asidemilerden MMA ve PA hastalarında da dikkat çekmiştir. Bu nedenle son MMA ve PA kılavuzlarında sistatin C kullanılarak eGFR hesaplanması önerilmiştir (79). Mevcut GA1 kılavuzlarında ise eGFR için kreatinin de sistatin C'nin de kullanılabileceği, kreatininin kas hastalığı olan hastalarda düşük olabileceğinin akılda tutulması gerektiği belirtilmiştir (29).

Elli dört GA1 hastasının eGFR sonuçlarının değerlendirildiği bir çalışmada, 3 hastanın kreatinine göre eGFR'si $90 \text{ mL/dk/1.73 m}^2$ 'nin altında bulunmuş, bu hastaların tümünün 12 yaşın üzerinde olması dikkat çekmiştir (1). Çalışmamızda, kreatinine göre eGFR değerlendirilmesi yapılan 15 hastanın birinde eGFR $90 \text{ mL/dk/1.73 m}^2$ 'nin altında hesaplanmıştır. Bu hasta 17 yaşındadır. Bu açıdan kreatinine göre eGFR değerlendirmesi, çalışmamızda hem insidans hem de 12 yaş üzerinde görülmesi bakımından literatür verileri ile uyumludur.

Glutarik asidüri tip 1 tanılı 150 hastanın verilerinin değerlendirildiği bir çalışmada erişkin yaş grubundaki hastaların yaklaşık %20-25'inde KBH bildirilmiştir. Bu çalışmada KBH, çocuklar ve adolesanlar için Schwartz formülüne göre kreatinin klirensi, yetişkinler için MDRD formülüne göre glomerüler filtrasyon hızı 60 mL/dk altında olarak tanımlanmıştır (6). Çalışmamızdaki veriler incelendiğinde, değerlendirmeye alınan hastalarda eGFR'si $60 \text{ mL/dk/1.73 m}^2$ 'nin altında olan kimse yoktur. Ancak kreatinin formülüne göre 1, sistatin C formülüne göre ise 7 hastanın eGFR'si $90 \text{ mL/dk/1.73 m}^2$ 'nin altında bulunmuştur. Sistatin C formülüne göre eGFR'si $90 \text{ mL/dk/1.73 m}^2$ 'nin altında olan hastalardan 5'i adolesan yaş grubundadır. Erişkin hastalarda eGFR $90 \text{ mL/dk/1.73 m}^2$ 'nin üzerinde saptanmıştır. Bu yönden

değerlendirildiğine çalışmamız literatürden farklı veriler ortaya koymuştur. Ancak hem yaş grubunun, hem temel alınan eGFR formülünün, hem de GFR sınırlarının farklı olması nedeniyle çalışmamızın bahsi geçen çalışma ile karşılaştırılması güçtür.

Mevcut çalışmalarda eGFR'nin yaş ile birlikte azaldığı bildirilmiştir. Bir çalışmada, Kaplan-Meier analizinde yaş ile birlikte KBH sıklığında orta düzeyde bir artış olduğu belirtilerek, adolesan ve yetişkin GA1 hastalarında KBH görülebileceği bildirilmiştir (6). Başka bir çalışmada da nörolojik fenotipten bağımsız olarak, böbrek fonksiyonunun yaşla birlikte azalma eğiliminde olduğu görülmüştür (1). Bu çalışmalarda hareket bozukluğunun eşlik edip etmemesinin, biyokimyasal fenotipin (*HE* veya *LE*) veya nörolojik fenotipin eGFR'yi etkilemediği gösterilmiştir (1, 6). Çalışmamızda kreatinine göre eGFR ile hastaların yaşları arasında yapılan Spearman korelasyon analizinde anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p=0,181$ ve $p=0,365$). Benzer şekilde çalışmamızda biyokimyasal fenotipler arasında eGFR ile anlamlı ilişki bulunmamıştır ($P=1,000$). Ağır nörolojik tutulumu olan hastalarda eGFR düşüşü görülmemiştir, ancak böbrek boyutlarında küçülme olması nedeniyle bu hastalarda riskin artmış olduğu düşünülebilir.

Çalışmamızdaki dikkat çekici unsurlardan biri, sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'lerin, kreatinine göre hesaplanan eGFR'lerden daha düşük olmasıdır. Sistatin C formülüne göre eGFR hesaplanan 15 hastanın 7'sinde eGFR $90 \text{ mL/dk/1.73 m}^2$ 'nin altında tespit edilmiştir. Kreatinin formülüne ek olarak 6 hastanın daha eGFR'sinin $90 \text{ mL/dk/1.73 m}^2$ 'nin altında olması erken dönemde böbrek hasarını fark etmek için, sistatin C'nin daha değerli olabileceğini göstermektedir. Üstelik farklı formüllere ait eGFR hesaplamalarının karşılaştırıldığı tek örneklem t testinde, ölçümlerin birbirleri ile uyumlu olmadığı görülmüştür. Mevcut kılavuz önerilerinde her iki tetkikin de kullanılabileceği belirtilmiş olsa da kreatininin yanlış bir yükseklik verebileceği çalışmamızın verileri ile ortaya konmuş ve benzer klinik durumdaki (yenidoğan taraması ile değil, klinik belirtilerin ortaya çıkmasından sonra tanı almış) GA1 hastalarının böbrek işlevlerinin değerlendirilmesinde sistatin C ölçümünün gerektiği görülmüştür. Ayrıca kreatinin klirensini saptamadaki altın standart 24 saatlik idrar toplama olmasına karşın, mevcut hastalık grubunda uyum sağlanamaması nedeniyle 24 saatlik idrar toplanmasının zor olması ve bu hesaplamaların da kreatinin bağımlı

olması nedeniyle sistatin C'ye göre eGFR değerlendirmesi yapmak uygulama açısından daha kolay ve uygundur.

Yaşın, sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR ile korelasyonuna bakıldığında, yapılan Spearman analizinde anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p=0,496$ ve $p=0,051$). Bununla birlikte mevcut kılavuzlarda böbrek hastalığı açısından GA1 hastalarının 6 yaşından sonra yıllık olarak değerlendirilmesine karşın çalışmamızda 6 yaşın altındaki bir hastada da sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR $90 \text{ mL/dk/1.73 m}^2$ 'nin altındadır. Bu nedenle böbrek hasarının kılavuz önerilerinden daha erken başlayabileceği ve böbrek işlevlerinin değerlendirilmesi için bir yaş sınırı olmaması gerektiği düşünülmüştür.

Adölesan ve erişkin 13 MMA hastasının uzun dönem böbrek işlevlerine bakılan bir çalışmada, potasyum ile kreatinine göre hesaplanmış eGFR arasında bir ilişki olmadığı ancak, ürik asit ile kreatinine göre hesaplanmış eGFR arasında ters orantı olduğu bildirilmiştir (108). Çalışmamızda ürik asit ile kreatinine göre hesaplanmış eGFR arasında bu şekilde bir ilişki gösterilmemiştir. Potasyum ile kreatinine göre hesaplanmış eGFR ise MMA çalışmasında olduğu gibi korele bulunmamıştır.

Kronik böbrek hastalığında kemik dokusundaki bozukluklara bağlı olarak renal osteodistrofi gelişir. Kalsiyum, fosfor, parathormon ve D vitamininin serum seviyelerindeki düzensizlikler bu durumun önemli bileşenleridir (109). Serum ALP düzeyi, KBH'de yaygın olarak hiperparatiroidizm ve renal kemik hastalığı için bir belirteç olarak kullanılır (110). Serum fosfor seviyeleri de renal kemik hastalığı gibi birçok faktöre bağlı olarak KBH'de artar. Böbrek Hastalıkları: Küresel Sonuçların İyileştirilmesi Vakfının (*Kidney Disease: Improving Global Outcomes*, KDIGO) 2017 yılında yayınladığı 'Kronik Böbrek Hastalığı – Mineral ve Kemik Bozuklukları' kılavuzunda, KBH Evre 3A'dan itibaren serum kalsiyum, fosfat, parathormon ve ALP aktivitesinin izlenmesini önerilmiştir. Aynı izlemin çocuklarda ise KBH Evre G2 ile başlaması gerektiği vurgulanmıştır (111). Çalışmamızda serum elektrolitleri kapsamında kalsiyum ve fosfor, karaciğer fonksiyon testleri kapsamında ise ALP bakılmıştır. Bu değerler normal aralıklarda bulunmuştur. Ancak, sistatin C'ye göre glomerüler filtrasyon hızı $90 \text{ mL/dk/1.73 m}^2$ 'nin altında ve üstünde olan iki grup karşılaştırıldığında, eGFR düşük olan grupta serum fosfor $[4,51 (3,74-4,98)]$ ve $3,35$

(3,06-4,23)] ve ALP [234 (139-280) ve 85 (70,75-151,5)] değerleri anlamlı olarak daha yüksek saptanmıştır ($p=0,021$, $p=0,011$). Bu açıdan bakıldığında, serum fosfor ve ALP değerlerindeki erken yükselmeler GFR düşüşünün ve KBH'ye bağlı görülen mineral ve kemik hastalığının habercisi olabilir. Ancak, çalışmamızda parathormon ve kemik sağlığı değerlendirilmediği için güvenilir yorum yapmak güçtür. Aralıklı ölçümler yapılması takip ve olası yükselmeleri tespit edebilmek açısından faydalı olabilir. Bu durumu ortaya koymak için daha çok hastayı içeren ve uzun süreli gözlemsel çalışmalara gereksinim vardır.

Proteinüri böbrek hasarının belirteçlerinden biridir. En sık glomerüler hasara bağlı görülmekle beraber tübüler hasarda da görülebilir ve daha çok glomerülopatilerde albuminüri şeklinde karşımıza çıkabilir (112). Spot idrarda protein:kreatinin oranının iki yaşın altındaki çocuklarda 0,5 mg/mg'nin, iki yaşın üzerindeki çocuklarda ve erişkinlerde 0,2 mg/mg'nin altında olması normal protein atılımını işaret eder. Protein:kreatinin oranının 2 mg/mg'nin üzerinde olması ise nefrotik düzeyde proteinüriyi gösterir (113). Çalışmamızdaki hastalardan 5'inde protein:kreatinin oranı 0,2 mg/mg'nin üzerinde görülmekle birlikte, nefrotik düzeyde proteinürisi olan hasta yoktu. Hasta ve kontrol gruplarını proteinüri açısından değerlendirdiğimizde spot idrarda protein:kreatinin oranlarının hasta grubunda anlamlı bir şekilde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [0,16 (0,09-0,22) - 0,07 (0,05-0,10), $p<0,001$]. Normal spot idrar albümin:kreatinin oranı 30 mg/g'nin altındadır. Bu oran 30-300 mg/g arasında hesaplandığında mikroalbuminüri varlığını düşündürür (114). Mikroalbuminüri; glomerüler bazal membranın, glomerül boyutlarında genişleme, membran kalınlığında artış, mezangial genişleme gibi mekanizmalara bağlı albümin sızdırması durumunda ortaya çıkar (115). Daha nadir olarak yetersiz tübüler reabsorpsiyon nedeniyle de mikroalbuminüri görülebilir (116). Çalışmamızdaki hastaların üçünde mikroalbuminüri saptanmıştır. Bu hastalardan biri proteinüri nedeniyle ACE inhibitörü kullanan bir hasta idi. Hasta ve kontrol gruplarının spot idrar albümin:kreatinin oranları karşılaştırıldığında ise anlamlı bir farklılık bulunmamıştır [13,02 (7,72-34,20) - 14,50 (8,58-19,76), $p=0,844$]. Hasta grubunda protein:kreatinin oranının daha yüksek görülmesi olası bir glomerüler hasarı işaret etse de eşlik eden belirgin albuminüri olmaması ve hasta grubu ile kontrol grubu arasında albümin:kreatinin oranlarında anlamlı bir farklılık görülmemesi glomerül hasar

varlığından uzaklaştırmıştır. Diğer organik asidemilerden MMA ile karşılaştırıldığında; MMA tanılı 13 hastanın böbrek işlevlerinin değerlendirildiği bir çalışmada hastaların hiçbirinde 500 mg/g'nin üzerinde proteinüri görülmediği ve 13 hastadan üçünde 26,55 mg/g'nin üzerinde albüminüri saptandığı bildirilmiştir (108). Albüminüri sıklığı açısından benzer sonuçlar görülmekle birlikte, bahsedilen çalışmada bu mikroalbüminürinin derecesi ve hastalık seyrindeki rolü hakkında net bir yorum yapılmamıştır.

5.3. Tübüler Belirteçler

Beta-2 mikroglobulin, sağlıklı böbreğin glomerüllerinden neredeyse tamamen filtrelenir ve sonrasında renal proksimal tübüller tarafından yeniden emilir. Normal fizyolojik koşullar altında idrarda yalnızca az miktarda B2MG tespit edilebilir. Bu nedenle serum ve idrar B2MG seviyeleri glomerül ve proksimal tübüllerin işlevselliğini yansıtır. Serumda artmış B2MG düzeyleri glomerüler hasarı yansıtırken, idrarda artmış B2MG tübüler hasarı işaret eder (117). Artmış B2MG düzeyinin tanımı ile ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur. Yakın dönemde Japonya'da yapılan bir çalışmada, yaşları 3-18 arasında değişen 1712 çocuktan spot idrar örnekleri alınarak referans değerler oluşturulmuştur. Buna göre spot idrar B2MG:kreatinin oranı için referans değer 3-6 yaş arasında 500 ng/mg, 6-18 yaş arasında ise 350 ng/mg olarak bulunmuştur (118). Yine Japonya kaynaklı erişkin çalışmalarına göre, erişkin yaş grubundaki referans spot idrar B2MG:kreatinin oranı 300 ng/g olarak belirtilmiştir (119). Çalışmamızdaki 16 hastanın 2'sinde B2MG:kreatinin oranı yüksek saptanmıştır. Hasta ve kontrol grupları B2MG değerleri açısından karşılaştırılmış ve spot idrar B2MG değerleri hasta grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur [161,50 (84,20-241,25) ve 53,00 (35,75-82,25), $p<0,001$]. Aynı zamanda spot idrar B2MG:kreatinin oranları yine hasta grubunda anlamlı olarak daha yüksektir [122,39 (67,40-200,05) ve 52,12 (31,03-103,43), $p=0,001$]. Hastaların büyük çoğunluğunda değerlerin normal aralıkta olmasına karşın, kontrol grubu değerlerinden yüksek saptanmış olması, böbrek hasarının erken dönemde B2MG artışı ile gösterilebileceğini ve bu hasarın tübül kaynaklı olabileceğini düşündürmektedir. Ancak sistatin C'ye göre hesaplanmış eGFR 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan grupların spot idrar B2MG:kreatinin oranlarına bakıldığında, iki grup arasında

anlamli bir farklılık saptanmamıştır [129,670 (67,61-200,81) ve 112,25 (64,66-191,41), $p=0,817$]. Çalışmamızdaki verilere benzer olarak; B2MG'nin dallı zincirli amino asit ve kobalamin metabolizma bozukluklarındaki düzeyleri ile ilgili yapılan bir çalışmada; MMA (*mut⁰*, *cblC*) ve PA tanılı hastalarda, kontrol grubuna göre B2MG:kreatinin oranları 4 kata kadar artmış olarak gösterilmiştir (120). Çalışmamızda spot idrar B2MG:kreatinin oranı ile yaş arasında negatif bir korelasyon saptanmıştır ($\rho = -0,638$, $p=0,008$). Bu durum literatür çalışmalarında da benzer şekilde bulunmuştur. Örneğin, bir çalışmada Kruskal-Wallis testi ve Steel-Dwass testi, yaş arttıkça B2MG:kreatinin, albümin:kreatinin ve protein:kreatinin oranlarında anlamlı bir azalma olduğunu göstermiştir (118). Bu durumun nedeni olarak yaş ile birlikte kreatinin artması düşünülmüştür. Ek olarak spot idrar B2MG:kreatinin oranı ile tanı sonrası ve toplam akut ensefalopatik kriz sayısı arasında güçlü pozitif korelasyon saptanmıştır (sırasıyla $\rho=0,671$, $p=0,004$ ve $\rho=0,643$, $p=0,007$). Bu durum metabolik kontrolü iyi olmayan hastaların tübüler fonksiyonlarının geçirilen ataklarla birlikte azalmış olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca spot idrar B2MG:kreatinin ile yapay ve toplam protein alımları arasında da pozitif yönde ilişki vardır. Yaşla beraber kilogram başına alınan protein miktarının azalması, B2MG'nin de yaş ile birlikte azalması ve toplam protein alımı ile kreatinin arasındaki negatif ilişki bu durumun nedenleri olarak sayılabilir.

“*Kidney Injury Molecule-1*” proksimal tübül belirteçlerinden biridir. Beta-2 mikroglobulin ile kıyaslandığında KIM1 daha yeni bir tetkiktir ve referans aralıkları ile ilgili literatürde farklı çalışmalar mevcuttur. Hiperürisemisi olan hastalarda KIM1'in araştırıldığı ve yaşları 2 ile 18 arasında değişen 73 çocuğun yer aldığı bir çalışmada, normoürisemik 25 kişilik referans grubun ortanca KIM1:kreatinin oranları 0,81 (0,59-1,01) ng/mg olarak ölçülmüştür (121). Hiperürisemi ile KIM1 arasındaki ilişkinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise 29 hastanın yer aldığı normoürisemik grupta ortanca KIM1:kreatinin değerleri 0,75 (0,46-1,14) olarak bildirilmiştir (122). Bir diğer çalışmada ise 368 sağlıklı çocuktan alınan spot idrar örneklerinden KIM1 çalışılmış, kreatinine normalize edilmeden bakılan ortanca KIM1 değerleri 0,41 (0,23-0,70) ng/mL olarak ölçülmüştür (123). Bu çalışmalarda 0-1 yaş grubuna ait veri bulunmamaktadır. Sıfır ile bir yaş arasındaki 106 sağlıklı çocuğun idrarlarının değerlendirildiği çalışmada ortanca spot idrar KIM1 değerleri 0,08 (0,08-

0,08) ng/mL olarak bulunmuş ve diğer yaş grupları ile kıyaslandığında belirgin olarak düşük saptanmıştır (124). Birçok farklı çalışmaya ve yaş grubuna ait farklı referans aralıkları bulunması, çalışmamızdaki hastaların KIM1 analizlerinin yorumlanmasını zorlaştırmıştır. Değerler tek tek ele alındığında, 2 hastanın sonuçları artmış olarak kabul edilebilir. Bunlarda biri KIM1:kreatinin oranı 1,006 ng/mg olan Hasta #07, diğeri ise 1 yaşın altında olup referans aralıklara göre spot idrar KIM1 yüksekliği olan (0,356 ng/mL) Hasta #12'dir. Bu hastada (Hasta #12) ciddi ölçüde B2MG ve B2MG:kreatinin yüksekliğinin de eşlik ettiği görülmüş, belirgin tübüler hasardan şüphelenilmiştir. Bir bütün olarak hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında ise, spot idrar KIM1 değerleri [0,31 (0,14-0,52) ve 0,20 (0,11-0,37)] arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p=0,242$). Benzer şekilde spot idrar KIM1:kreatinin oranları, hasta ve kontrol grubu arasında [0,22 (0,13-0,42) ve 0,20 (0,11-0,37)] anlamlı farklılık göstermemektedir ($p=0,418$). Sistatin C'ye göre hesaplanmış eGFR 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan grupların spot idrar KIM1 değerleri ve KIM1:kreatinin oranlarına bakılmış, iki grup arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p=0,643$, $p=0,643$). Dallı zincirli organik asidemilerde KIM1'in rolü ile ilgili yakın zamanda yapılan bir kohort çalışmasına, en az evre 2 KBH saptanan MMA hastalarında KIM1:kreatinin oranının kontrol grubuna göre belirgin ölçüde artmış olduğu ve B2MG:kreatinin ile yüksek düzeyde korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (125). Başka bir çalışmada MMA (*mut^o*) ve PA hastalarında, sağlıklı kontrollere göre KIM1 düzeylerinde 2 kat artış saptanmıştır (120). Erişkin hastaların olduğu, 5 farklı kohort çalışmasının verilerinin KIM1 ile ilişkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, KIM1'in eGFR düşüşü ve albuminüri ile birlikte arttığı gösterilmiştir (126). Çalışmamızda GA1'de KIM1'in rolü araştırılmış, literatürde gösterilen verilerin GA1 ile örtüşmediği görülmüştür. Örneğin çalışmamızda KIM1 ile B2MG'nin kreatinine göre normalize edilmiş değerleri arasındaki korelasyona bakıldığında aralarında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p=0,282$, $p=0,289$). Tahmini GFR ile KIM1:kreatinin değerleri arasında da anlamlı bir ilişki gösterilememiştir ($p= -0,168$, $p=0,534$). Tüm bu sonuçlar GA1'de KIM1'in tübüler işlev bozukluğu KBH taramasında kullanımının değerini şüpheyne düşürmektedir. Bunun nedenlerinden biri, MMA hastaları ile yapılan çalışmadan farklı olarak çalışmamızdaki GA1 hastalarının KBH'lerinin ileri evrede olmaması olabilir. Erken dönemde yani böbrek hasarının yeni oluşmaya başladığı,

ilerlemiş KBH evresi olmayan hastalarda KIM1'in kullanılabilirliğini belirsizdir. Tüm bu sonuçlarla beraber ağır nörolojik etkilenmesi olan hastaların B2MG:kreatinin oranları, hafif nörolojik etkilenmesi olan hastalara göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur [185,0 (108,1-278,3) ve 67,7 (56,7-148,5), $p=0,045$]. Ayrıca KIM1:kreatinin oranları da ağır nörolojik etkilenmesi olan grupta yine anlamlı olarak daha yüksektir [0,403 (0,315-0,722) ve 0,170 (0,085-0,224), $p=0,025$]. Bu sonuçlar, nörolojik etkilenme durumunun proksimal tübüler hasar ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

‘‘*Neutrophil gelatinase-associated lipocalin*’’, hasar görmüş olan nefron epitelinden salgılanan bir biyobelirteçtir. Böbrek hasarını takiben nefronun distal kısmında, yani Henle'nin kulpunun çıkan kalın kolunda, distal tübülde ve toplayıcı kanalda büyük ölçüde artar (127). Tıpkı KIM1'de olduğu gibi, NGAL için de literatürde farklı referans aralıkları mevcuttur. Bir çalışmada sağlıklı çocuklarda ortalama idrar NGAL düzeyi 6,6 (2,8-17) ng/mL olarak gösterilmiştir (123). Sağlıklı çocuklarda yapılan başka bir çalışmada ise spot idrarda NGAL için limit 117,6 ng/mL olarak verilmiştir (128). Bu referans aralığı ile değerlendirme yapıldığında, çalışmamızdaki 4 hastanın NGAL değerleri yüksek bulunmuştur. Ancak kontrol grubundaki 3 hastanın da NGAL düzeyleri 117,6 ng/mL'nin üzerindedir. NGAL:kreatinin oranlarına bakıldığında ise 2 hastanın oranları, kontrollerine göre ciddi düzeyde artmış olarak bulunmuştur (Hasta #04 ve #07). Bu hastaların diğer böbrek işlevleri incelendiğinde Hasta #04'ün protein:kreatinin oranının 0,326 mg/g, Hasta #07'nin ise protein:kreatinin oranının 0,207 mg/g ve KIM1:kreatinin oranının 1,006 ng/mg olduğu görülmüştür. Her iki hastanın da eGFR düzeyleri 90 mL/dk/1,73 m²'nin üzerindedir. Hasta ve kontrol gruplarının sonuçları toplu bir şekilde değerlendirildiğinde spot idrar NGAL değerlerinde anlamlı bir farklılık yoktur [22,05 (7,48-146,10) ve 11,45 (1,45-41,23), $p=0,071$]. Benzer şekilde spot idrar NGAL:kreatinin oranları hasta ve kontrol gruplarında anlamlı farklılık oluşturmamıştır [15,44 (8,87-115,44) ve 17,56 (1,50-30,63), $p=0,284$]. Yine KIM1'de olduğu gibi, eGFR ile NGAL düzeyleri ve NGAL:kreatinin oranları korelasyon göstermemiştir ($\rho=0,125$, $p=0,644$ ve $\rho=0,072$, $p=0,791$). Sistatin C'ye göre hesaplanmış eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında ve üstünde olan grupların spot idrar NGAL düzeyleri ve NGAL:kreatinin oranlarına bakıldığında iki grup arasında

anlamli bir farklılık görülmemiştir [34,7 (9,2-276,3) - 13,0 (5,7-64,5), $p=0,271$ ve 15,4 (8,9-383,1) - 10,4 (6,3-55,6), $p=0,487$]. Organik asidemilerde NGAL'in rolüne bakıldığında, yapılan bir çalışmada en az evre 2 KBH saptanan MMA hastalarında NGAL:kreatinin oranının kontrol grubuna göre belirgin ölçüde artmış olduğu ve B2MG:kreatinin oranı ile yüksek düzeyde korelasyon gösterdiği bildirilmiştir. Aynı  alışmada PA hastalarında da NGAL'in arttığı ancak B2MG:kreatinin ile korele olmadığı gösterilmiştir (125). Başka bir organik asidemi çalışmasında NGAL, kobalamin C eksikliğinde artış gösterirken, PA ve MMA (*mut⁰*) hastalarında kontrol grubuna göre anlamli bir farklılık göstermemiştir (120). Literatürde NGAL'in organik asidemilerde ve böbrek yetmezliğinde kullanımı ile ilgili farklı veriler mevcuttur ve çalışmamızda da NGAL ile ilgili anlamli bir analiz elde edilmemiştir. Bu açılardan bakıldığında NGAL'in GA1'de böbrek hasarını tespit etmedeki yeri tartışmalıdır.

Yalnızca böbrek tarafından üretilen bir protein olan UMOD, fizyolojik koşullarda idrarda en çok bulunan proteindir (129). Birçok  alışmada, UMOD seviyelerinin yüksek olması, daha yüksek eGFR ve böbrek boyutu ile ilişkili bulunmuş olup daha iyi bir böbrek fonksiyonel rezervini gösterdiği düşünülmüştür (130). Uromodulinin akut böbrek hasarını öngörmesi ile ilgili bir çalışmada; kardiyopulmoner bypass ameliyatı geçiren çocuklardan işlem öncesi alınan UMOD değerlerinin yüksek olmasının, daha az akut böbrek hasarı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (131). Erişkinlerde yapılan bir çalışmada idrarda artmış UMOD değerlerinin, üriner sistem enfeksiyonu riskinde azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (132). Tüm bu verilerle birlikte, UMOD için net bir referans aralık bulunmamaktadır. Çalışmamızdaki verilere bakıldığında; hasta ve kontrol gruplarının UMOD düzeyleri ve UMOD:kreatinin oranlarında anlamli farklılıklar bulunmamıştır [sırasıyla 9,41 (4,53-22,84); 4,77 (2,11-11,34), $p=0,096$ ve 8,09 (2,98-22,64); 4,64 (2,21-12,26), $p=0,205$]. Benzer şekilde sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin üstünde ve altında olan hastaların spot idrar UMOD düzeyleri [6,715 (1,798-22,053); 11,62 (4,75-13,75)] ve UMOD:kreatinin değerlerinde [3,442 (2,651-22,642); 9,447 (5,220-11,853)] anlamli bir farklılık bulunmamıştır (sırasıyla $p=0,418$, $p=0,563$). Çalışmamızda bulunun sonuçlarda kontrol grubunun UMOD değerleri, hasta grubundan daha yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda hasta grubunu kendi içinde değerlendirdiğimizde eGFR'si düşük olan grupta UMOD değerleri daha

yüksektir. Her ne kadar bu yükseklikler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş olmasa da sağlam böbrekte yüksek çıkması beklenen UMOD ile ilgili bu veriler düşündürücüdür. Bu anlamda UMOD'un böbrek hasarındaki yeri ile ilgili yeni çalışmaların gerekliliği görülmüştür.

5.4. Renal Ultrasonografi ve Doppler Ultrasonografi

Çalışmamızda renal US ve Doppler US ile detaylı incelemeler yapılmıştır. Böbrek uzunlukları, parankim kalınlıkları, “*resistive index*” (RI), “*pulsatility index*” (PI) ilyak ve renal artere ait ivme ve ivme zamanları, renal arter ve venlere ait akım hızları bu kapsamda değerlendirilmiştir.

Çalışma hastalarında malnütrisyon ve büyüme geriliği sık olduğu için böbrek boyutlarının yaşa değil, boya göre değerlendirilmesi daha uygun görülmüştür. Hastaların boylarına göre böbrek uzunlukları değerlendirildiğinde sağ böbrek için hastaların %31'i, sol böbrek için ise hastaların %40'ında değerler 10 percentilin altındadır. Sağ, sol veya her iki böbrek için boya göre böbrek uzunluğu 2,5 percentilin altında olan (küçük böbrekli) 5 hasta (%31) vardır. Hasta boyuna göre değerlendirme yapıldığından yalnızca malnütrisyon böbrek küçüklüğünü açıklamada yeterli değildir. Bu durum, KBH'de görülen böbrek boyutlarında küçülmenin bir göstergesi olabilir. Yeni KBH tanısı almış erişkin hastalarda yapılan bir çalışmada, eGFR ile böbrek uzunlukları arasında pozitif bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (133). Metilmalonik asidemi tanılı hastaların renal US ile değerlendirildiği ve böbrek uzunluklarına bakıldığı bir çalışmada, kontrol grubuna kıyasla MMA hastalarında böbrek uzunluklarının belirgin şekilde daha kısa olduğu gösterilmiştir (82). Ancak çalışmamızda vücut boyuna göre küçük böbreği olan (böbreklerden en az birinin boyutu hasta boyuna göre 2,5 percentilin altında) ve olmayan iki grup karşılaştırıldığında eGFR, spot idrar protein:kreatinin, albümin:kreatinin ve tübüler biyobelirteçler açısından anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

Doppler US incelemelerinden RI değerleri, bir organın perfüzyona karşı direncinin göstergesidir. Renal RI, eGFR ile koreledir ve KBH evresi ilerledikçe giderek artar (134). Çalışmamızdaki hastaların RI düzeyleri normal aralıkta saptanmıştır. Bu durum RI'nın ileri evre KBH'da yükselmesi ve çalışmadaki hastalarda ileri evre KBH olmaması ile ilişkili olabilir.

Çalışmamızdaki Doppler US incelemelerinde özellikle renal ven akım hızları ile ilgili önemli bilgiler elde edilmiştir. Tüm hastaların renal ven akım hızları normaldir; ancak sağ ve sol renal ven akım hızları (cm/sn), eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında olan grupta, eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin üstünde olan gruba göre anlamlı olarak daha yavaş bulunmuştur [20,00 (18,00-23,00); 27,50 (24,50-29,75), p=0,006 ve 20,00 (18,50-21,25); 26,00 (22,2-28,75), p=0,008]. Renal ven akım hızları ile ilgili literatürde yeterli çalışma olmamakla birlikte, renal ven akım örüntüleri ile ilgili bazı çalışmalar mevcuttur. Kritik bakımda sepsis nedeniyle takip edilen erişkin hastaların yer aldığı bir çalışmada, intrarenal venöz akışın devamlı veya kesintili olmasının akut böbrek yetmezliği ve ölümlle olan ilişkisi incelenmiş ve kesintili intrarenal venöz akış olan hastalarda akut böbrek yetmezliği ve ölüm riskinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (135). Başka bir erişkin çalışmasında da kesintili renal akım paterninin konjestif kalp yetmezliği olan hastalarda kötü prognozu öngördüğü gösterilmiştir (136). Çalışmamızda ayrıca, renal ven akım hızları ile birçok tetkik arasında güçlü korelasyonlar saptanmıştır. Örneğin, hasta grubunda anlamlı olarak daha yüksek olan spot idrar B2MG:kreatinin oranları, sol renal ven akım hızları ile güçlü negatif korele saptanmıştır ($\rho = -0,633$ ve $p=0,011$). Benzer şekilde sağ ve sol renal ven akım hızları UMOD:kreatinin oranları ile güçlü negatif koreledir ($\rho = -0,679$ ve $p=0,009$; $\rho = -0,609$ ve $p=0,016$). Yine spot idrar tetkiklerinden albümin:kreatinin oranının; sağ renal ven akım hızları arasındaki negatif korelasyon ($\rho = -0,668$, $p=0,007$) böbrek hasarında görülebilecek olan albüminüri ile renal ven akımları arasında bir ilişki olabileceğini düşündürmektedir. Dikkat çeken korelasyonlardan bir diğeri de sağ renal ven akım hızları ile ALP arasındaki çok güçlü negatif ilişkidir ($r = -0,808$, $p < 0,001$). Alkalen fosfatazın, sistatin C'ye göre eGFR'si 90 mL/dk/1,73 m²'nin altında grupta daha yüksek bulunması da böbrek hasarındaki renal ven akım hızlarının rolü ile ilgili düşündürücüdür. Bu anlamda sağ ve sol renal ven akım hızları ile sistatin C'ye göre hesaplanan eGFR düzeyleri arasındaki ilişkiye bakıldığında aralarında pozitif bir korelasyon mevcuttur ($r = 0,611$ ve $p=0,012$; $r = 0,729$ ve $p=0,002$). Renal ven akımları ile ilgili bu bilgiler tümüyle alındığında; çalışmamızdaki hastaların renal ven akım hızları normal olmakla birlikte bulgular renal ven akım hızlarının azalmasının, GA1 hastalarında KBH için erken dönem belirteci olabileceğini düşündürmektedir.

Korelasyon analizlerine tümüyle bakıldığında, çizilen korelasyon şekillerinde ekstrem değerlerin korelasyonları etkilemiş olabileceği düşünüldü. Birçok analizde ekstrem değerlerin bulunması nedeniyle bulunan korelasyonların bilimsel olarak anlamlı olduğunu gösterebilmek için daha çok çalışma gerekmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Çalışmaya dahil edilen 16 hastanın yaşları 5 ay ile 24 yıl arasında değişmektedir.
- Hastaların 6'sında ağır nörolojik etkilenme mevcuttur.
- Hastaların yarısında (n=8) malnütrisyon vardır.
- Ofis kan basıncı ölçümü yapılabilen 10 hastadan birinde evre 1 diyastolik hipertansiyon saptanmıştır. Diğer tansiyon değerleri normal aralıktadır.
- 24 saatlik ambulator kan basıncı ölçümü yapılan 4 hastadan 1'inde hipertansiyon saptanmıştır. Diğer tansiyon değerleri normal aralıktadır.
- Kreatinine göre eGFR değerleri 81 ve 153 mL/dk/1.73 m² arasındadır ve ortalama eGFR değeri 118,93±17,83 mL/dk/1,73 m² dir.
- Sistatin-C'ye göre hesaplanan eGFR'ler 57 ile 125 mL/dk/1,73 m² arasındadır. Ortalaması 95,25 ±20,52 mL/dk/1,73 m² olarak bulunmuştur. Bir hastanın eGFR'si 60 mL/dk/1,73 m²'nin altındadır; ancak bu hasta 2 yaşın altında olup bu yaş grubu için sistatin C bazlı kabul görmüş bir eGFR hesaplama formülü olmadığı için eGFR ilgili analizlere bu hasta dahil edilmemiştir.
- eGFR hesaplanan 15 hastanın; 1'inde kreatinine göre eGFR, 7'sinde sistatin C'ye göre eGFR 90 mL/dk/1.73 m²'nin altındadır.
- 7 hasta Evre 2 KBH, bir hasta ise Evre 1 KBH olarak değerlendirilmiştir.
- 5 hastanın spot idrar protein:kreatinin oranı 0,2 mg/mg'nin üzerindedir.
- 4 hastanın spot idrar albümin:kreatinin oranı 30 mg/g'nin üzerindedir.
- Sağ, sol veya her iki böbrek için vücut uzunluğuna göre böbrek boyutu 2,5 persentilin altında olan hasta sayısı 5'tir.
- Spot idrar B2MG:kreatinin oranı, 2 hastada yüksektir. 1 hastanın değeri ekstrem değer olarak kabul edilmiştir.
- Hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında, yaş ve cinsiyet açısından benzer olan gruplar arasında spot idrarda albümin, KIM1, NGAL ve UMOD düzeyleri ve bunların spot idrar kreatinin düzeyine oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.
- Hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında, yaş ve cinsiyet açısından benzer olan gruplar arasında spot idrarda protein, protein:kreatinin oranı, B2MG ve

B2MG:kreatinin oranı hastalarda anlamlı ölçüde daha yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p=0,001$, $p<0,001$, $p<0,001$ ve $p=0,001$).

- UMOD:kreatinin oranı hasta ve kontrol grupları arasında farklılık göstermemekle beraber, bu oran spot idrar protein:kreatinin ve spot idrar B2MG:kreatinin oranları ile çok güçlü pozitif korele saptanmıştır.
- eGFR ölçümlerine göre, eGFR'si $90 \text{ mL/dk/1,73 m}^2$ 'nin altında olan hastaların BGVA, serum fosfor ve ALP değerleri daha yüksek, sağ ve sol renal ven akım hızları ise daha düşük bulunmuştur.
- Ağır nörolojik etkilenmesi olan hastalarda yapay ve toplam günlük protein alımı anlamlı olarak daha yüksek; YGVA z skoru, YGB z skoru, BGVA yüzdesi, VKİ ve VKİ z skoru anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur.
- Ağır nörolojik etkilenmesi olan hastalarda malnütrisyon anlamlı olarak daha fazla görülmüştür.
- Hafif ve ağır nörolojik etkilenme ile sistatin C'ye göre eGFR'si $90 \text{ mL/dk/1,73 m}^2$ 'nin altında ve üstünde olan gruplar birbirleri ile karşılaştırıldığında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.
- Ağır nörolojik etkilenmesi olan hastaların BUN ve sistatin C düzeyleri anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. Ancak eGFR hesaplamalarında iki grup arasında anlamlı bir farklılık yoktur.
- Tübüler belirteçlerden B2MG:kreatinin ve KIM1:kreatinin oranları ağır nörolojik etkilenmesi olan hastalarda anlamlı olarak daha yüksektir.
- Boya göre bakılan böbrek uzunluk persentilleri her iki böbrek için de ağır nörolojik tutulumu olan hastalarda daha düşük saptanmıştır.

Öneriler:

- Glutarik asidüri tip 1 hastalarında böbrek hasarı görülebilmektedir. Bu nedenle böbrek işlevleri değerlendirilmelidir.
- Böbrek hasarı herhangi bir yaşta görülebileceğinden, böbrek işlevlerinin incelenmesi için herhangi bir yaş sınırı bulunmamalıdır.
- Glomerüler filtrasyon hızı değerlendirmesinde, kreatinin bazlı formüller yanlış sonuçlar verebileceğinden tıpkı MMA hastalarında olduğu gibi sistatin C bazlı formüller daha uygundur.

- Serum fosfor ve ALP değerlerindeki erken yükselmeler GFR düşüşünün ve KBH'ye bağlı görülen mineral ve kemik hastalığının habercisi olabileceğinden aralıklı ölçümler yapılması takip ve olası yükselmeleri tespit edebilmek açısından faydalı olabilir.
- Hasta grubunun idrar protein:kreatinin ve B2MG:kreatinin oranlarının daha yüksek saptanması nedeniyle bu parametreler böbrek işlevlerinin incelenmesinde özellikle bakılmalıdır.
- Glutarik asidüri tip 1 hastalarında böbrek boyutlarında küçülme görülebilmesi, KBH ile ilişkili olabilir. Bu nedenle bu hastaların renal US değerlendirmesi yapılmalıdır.
- Tübüler işlevlerin incelenmesinde B2MG; KIM-1, NGAL ve UMOD ile kıyaslandığında daha güvenilir bir parametredir. KIM-1, NGAL ve UMOD'un GA1 hastalarında tübüler işlevleri değerlendirmede kullanımını araştırmak için uzun süreli ve daha fazla sayıda hastayı içeren çalışmalara ihtiyaç vardır.
- Renal ven akım hızları, eGFR ve çeşitli tübüler belirteçler ile ilişkili bulunduğu için GA1 hastalarında böbrek işlevleri ile ilgili yeni bir potansiyel belirteç olabilir. Bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Boy N, Mengler K, Thimm E, Schiergens KA, Marquardt T, Weinhold N, et al. Newborn screening: A disease-changing intervention for glutaric aciduria type 1. *Ann Neurol*. 2018;83(5):970-9.
2. Harting I, Neumaier-Probst E, Seitz A, Maier EM, Assmann B, Baric I, et al. Dynamic changes of striatal and extrastriatal abnormalities in glutaric aciduria type I. *Brain*. 2009;132(Pt 7):1764-82.
3. Heringer J, Boy SP, Ensenauer R, Assmann B, Zschocke J, Harting I, et al. Use of guidelines improves the neurological outcome in glutaric aciduria type I. *Ann Neurol*. 2010;68(5):743-52.
4. Kolker S, Garbade SF, Greenberg CR, Leonard JV, Saudubray JM, Ribes A, et al. Natural history, outcome, and treatment efficacy in children and adults with glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency. *Pediatr Res*. 2006;59(6):840-7.
5. Morris AA, Hoffmann GF, Naughten ER, Monavari AA, Collins JE, Leonard JV. Glutaric aciduria and suspected child abuse. *Arch Dis Child*. 1999;80(5):404-5.
6. Kolker S, Valayannopoulos V, Burlina AB, Sykut-Cegielska J, Wijburg FA, Teles EL, et al. The phenotypic spectrum of organic acidurias and urea cycle disorders. Part 2: the evolving clinical phenotype. *J Inherit Metab Dis*. 2015;38(6):1059-74.
7. Zsengeller ZK, Aljinovic N, Teot LA, Korson M, Rodig N, Sloan JL, et al. Methylmalonic acidemia: a megamitochondrial disorder affecting the kidney. *Pediatr Nephrol*. 2014;29(11):2139-46.
8. Manoli I, Sysol JR, Li L, Houillier P, Garone C, Wang C, et al. Targeting proximal tubule mitochondrial dysfunction attenuates the renal disease of methylmalonic acidemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(33):13552-7.
9. Keyser B, Glatzel M, Stellmer F, Kortmann B, Lukacs Z, Kolker S, et al. Transport and distribution of 3-hydroxyglutaric acid before and during induced encephalopathic crises in a mouse model of glutaric aciduria type 1. *Biochim Biophys Acta*. 2008;1782(6):385-90.

10. Muhlhausen C, Burckhardt BC, Hagos Y, Burckhardt G, Keyser B, Lukacs Z, et al. Membrane translocation of glutaric acid and its derivatives. *J Inherit Metab Dis.* 2008;31(2):188-93.
11. Thies B, Meyer-Schwesinger C, Lamp J, Schweizer M, Koeller DM, Ullrich K, et al. Acute renal proximal tubule alterations during induced metabolic crises in a mouse model of glutaric aciduria type 1. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1832(10):1463-72.
12. Ferreira CR, Rahman S, Keller M, Zschocke J, Group IA. An international classification of inherited metabolic disorders (ICIMD). *J Inherit Metab Dis.* 2021;44(1):164-77.
13. Morava E, Rahman S, Peters V, Baumgartner MR, Patterson M, Zschocke J. Quo vadis: the re-definition of "inborn metabolic diseases". *J Inherit Metab Dis.* 2015;38(6):1003-6.
14. Ferreira CR, van Karnebeek CDM. Inborn errors of metabolism. *Handb Clin Neurol.* 2019;162:449-81.
15. Lee JJY, Wasserman WW, Hoffmann GF, van Karnebeek CDM, Blau N. Knowledge base and mini-expert platform for the diagnosis of inborn errors of metabolism. *Genet Med.* 2018;20(1):151-8.
16. Ezgu F. Inborn Errors of Metabolism. *Adv Clin Chem.* 2016;73:195-250.
17. Abrahamsen RK, Lund AM, Rasmussen J. Patients with primary carnitine deficiency treated with L-carnitine are alive and doing well-A 10-year follow-up in the Faroe Islands. *JIMD Rep.* 2023;64(6):453-9.
18. Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü Ankara T. Türkiye 2018 Nüfus ve Sağlık Araştırması 2018 [Available from: http://www.sck.gov.tr/wp-content/uploads/2020/08/TNSA2018_ana_Rapor.pdf.
19. Levy PA. Inborn errors of metabolism: part 1: overview. *Pediatr Rev.* 2009;30(4):131-7.
20. Yuksel-Bican K, Yildiz Y. Gelişim Geriliği Olan Çocukta Ne Zaman Kalıtsal Metabolik Hastalık Düşünülmeli? *Katkı Pediatri Dergisi.* 2022;43(4-5):418.
21. Gambello MJ, Li H. Current strategies for the treatment of inborn errors of metabolism. *J Genet Genomics.* 2018;45(2):61-70.

22. Wolf B. Successful outcomes of older adolescents and adults with profound biotinidase deficiency identified by newborn screening. *Genet Med.* 2017;19(4):396-402.
23. Chiesa R, Wynn RF, Veys P. Haematopoietic stem cell transplantation in inborn errors of metabolism. *Curr Opin Hematol.* 2016;23(6):530-5.
24. Morioka D, Kasahara M, Takada Y, Shirouzu Y, Taira K, Sakamoto S, et al. Current role of liver transplantation for the treatment of urea cycle disorders: a review of the worldwide English literature and 13 cases at Kyoto University. *Liver Transpl.* 2005;11(11):1332-42.
25. Wang Q, Li X, Ding Y, Liu Y, Song J, Yang Y. Clinical and mutational spectra of 23 Chinese patients with glutaric aciduria type 1. *Brain Dev.* 2014;36(9):813-22.
26. Fu Z, Wang M, Paschke R, Rao KS, Frerman FE, Kim JJ. Crystal structures of human glutaryl-CoA dehydrogenase with and without an alternate substrate: structural bases of dehydrogenation and decarboxylation reactions. *Biochemistry.* 2004;43(30):9674-84.
27. Gurbuz BB, Yilmaz DY, Coskun T, Tokatli A, Dursun A, Sivri HS. Glutaric aciduria type 1: Genetic and phenotypic spectrum in 53 patients. *Eur J Med Genet.* 2020;63(11): Article 104032.
28. Schuurmans IME, Dimitrov B, Schroter J, Ribes A, de la Fuente RP, Zamora B, et al. Exploring genotype-phenotype correlations in glutaric aciduria type 1. *J Inherit Metab Dis.* 2023;46(3):371-90.
29. Boy N, Muhlhausen C, Maier EM, Ballhausen D, Baumgartner MR, Beblo S, et al. Recommendations for diagnosing and managing individuals with glutaric aciduria type 1: Third revision. *J Inherit Metab Dis.* 2023;46(3):482-519.
30. Hoffman GF, Kölker S. Inborn Metabolic Diseases, Chapter 22: Cerebral Organic Acid Disorders and Other Disorders of Lysine Catabolism (2016) p. 339.
31. Bjugstad KB, Goodman SI, Freed CR. Age at symptom onset predicts severity of motor impairment and clinical outcome of glutaric acidemia type 1. *J Pediatr.* 2000;137(5):681-6.

32. Demailly D, Vianey-Saban C, Acquaviva C, Gonzalez V, Rubio IA, Cyprien F, et al. Atypical Glutaric Aciduria Type I with Hemidystonia and Asymmetric Radiological Findings Misdiagnosed as an Ischemic Stroke. *Mov Disord Clin Pract.* 2018;5(4):436-8.
33. Boy N, Heringer J, Brackmann R, Bodamer O, Seitz A, Kolker S, et al. Extrastriatal changes in patients with late-onset glutaric aciduria type I highlight the risk of long-term neurotoxicity. *Orphanet J Rare Dis.* 2017;12(1):77.
34. Kulkens S, Harting I, Sauer S, Zschocke J, Hoffmann GF, Gruber S, et al. Late-onset neurologic disease in glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency. *Neurology.* 2005;64(12):2142-4.
35. Baric I, Wagner L, Feyh P, Liesert M, Buckel W, Hoffmann GF. Sensitivity and specificity of free and total glutaric acid and 3-hydroxyglutaric acid measurements by stable-isotope dilution assays for the diagnosis of glutaric aciduria type I. *J Inherit Metab Dis.* 1999;22(8):867-81.
36. Chace DH, Kalas TA, Naylor EW. Use of tandem mass spectrometry for multianalyte screening of dried blood specimens from newborns. *Clin Chem.* 2003;49(11):1797-817.
37. Hoffman GF, Kölker S. Inborn Metabolic Diseases, Chapter 22: Cerebral Organic Acid Disorders and Other Disorders of Lysine Catabolism (2016) p. 340.
38. Loeber JG, Platis D, Zetterstrom RH, Almashanu S, Boemer F, Bonham JR, et al. Neonatal Screening in Europe Revisited: An ISNS Perspective on the Current State and Developments Since 2010. *Int J Neonatal Screen.* 2021;7(1), Article 15.
39. Lindner M, Ho S, Fang-Hoffmann J, Hoffmann GF, Kolker S. Neonatal screening for glutaric aciduria type I: strategies to proceed. *J Inherit Metab Dis.* 2006;29(2-3):378-82.
40. Ozgedi KD, Tokgoz Yilmaz S, Gurbuz BB, Sivri HS, Sennaroglu G. Does glutaric aciduria type 1 affect hearing function? *Metab Brain Dis.* 2022;37(6):2121-32.
41. Kurkina MV, Mihaylova SV, Baydakova GV, Saifullina EV, Korostelev SA, Pyankov DV, et al. Molecular and biochemical study of glutaric aciduria type 1

- in 49 Russian families: nine novel mutations in the GCDH gene. *Metab Brain Dis.* 2020;35(6):1009-16.
42. Martin-Rivada A, Palomino Perez L, Ruiz-Sala P, Navarrete R, Cambra Conejero A, Quijada Fraile P, et al. Diagnosis of inborn errors of metabolism within the expanded newborn screening in the Madrid region. *JIMD Rep.* 2022;63(2):146-61.
 43. Tsai FC, Lee HJ, Wang AG, Hsieh SC, Lu YH, Lee MC, et al. Experiences during newborn screening for glutaric aciduria type 1: Diagnosis, treatment, genotype, phenotype, and outcomes. *J Chin Med Assoc.* 2017;80(4):253-61.
 44. Kilavuz S, Bulut D, Kor D, Seker-Yilmaz B, Ozcan N, Incecik F, et al. The outcome of 41 Late-Diagnosed Turkish GA-1 Patients: A Candidate for the Turkish NBS. *Neuropediatrics.* 2021;52(5):358-69.
 45. Demirelce O, Aksungar FB, Saral NY, Kilercik M, Serteser M, Unsal I. Institutional experience of newborn screening for inborn metabolism disorders by tandem MS in the Turkish population. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2020;33(6):703-11.
 46. Boy N, Mengler K, Heringer-Seifert J, Hoffmann GF, Garbade SF, Kolker S. Impact of newborn screening and quality of therapy on the neurological outcome in glutaric aciduria type 1: a meta-analysis. *Genet Med.* 2021;23(1):13-21.
 47. Martner EMC, Maier EM, Mengler K, Thimm E, Schiergens KA, Marquardt T, et al. Impact of interventional and non-interventional variables on anthropometric long-term development in glutaric aciduria type 1: A national prospective multi-centre study. *J Inherit Metab Dis.* 2021;44(3):629-38.
 48. Harambat J, van Stralen KJ, Kim JJ, Tizard EJ. Epidemiology of chronic kidney disease in children. *Pediatr Nephrol.* 2012;27(3):363-73.
 49. Jancic SG, Mocnik M, Marcun Varda N. Glomerular Filtration Rate Assessment in Children. *Children (Basel).* 2022;9(12):1995.
 50. Chen TK, Knicely DH, Grams ME. Chronic Kidney Disease Diagnosis and Management: A Review. *JAMA.* 2019;322(13):1294-304.
 51. Wong H, Mylrea K, Feber J, Drukker A, Filler G. Prevalence of complications in children with chronic kidney disease according to KDOQI. *Kidney Int.* 2006;70(3):585-90.

52. Furth SL, Abraham AG, Jerry-Fluker J, Schwartz GJ, Benfield M, Kaskel F, et al. Metabolic abnormalities, cardiovascular disease risk factors, and GFR decline in children with chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011;6(9):2132-40.
53. Pugh D, Gallacher PJ, Dhaun N. Management of Hypertension in Chronic Kidney Disease. *Drugs*. 2019;79(4):365-79.
54. Schwartz GJ, Work DF. Measurement and estimation of GFR in children and adolescents. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009;4(11):1832-43.
55. Thongprayoon C, Cheungpasitporn W, Kashani K. Serum creatinine level, a surrogate of muscle mass, predicts mortality in critically ill patients. *J Thorac Dis*. 2016;8(5):E305-11.
56. Chew JS, Saleem M, Florkowski CM, George PM. Cystatin C--a paradigm of evidence based laboratory medicine. *Clin Biochem Rev*. 2008;29(2):47-62.
57. Buturovic-Ponikvar J, Visnar-Perovic A. Ultrasonography in chronic renal failure. *Eur J Radiol*. 2003;46(2):115-22.
58. Carmichael J, Easty M. Imaging chronic renal disease and renal transplant in children. *Pediatr Radiol*. 2010;40(6):963-74.
59. Wenderfer SE, Gaut JP. Glomerular Diseases in Children. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2017;24(6):364-71.
60. Ingelfinger JR, Kalantar-Zadeh K, Schaefer F. World Kidney Day 2016: Averting the Legacy of Kidney Disease--Focus on Childhood. *Am J Kidney Dis*. 2016;67(3):349-54.
61. Gobe GC, Johnson DW. Distal tubular epithelial cells of the kidney: Potential support for proximal tubular cell survival after renal injury. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007;39(9):1551-61.
62. Sands JM, Layton HE. Advances in understanding the urine-concentrating mechanism. *Annu Rev Physiol*. 2014;76:387-409.
63. Kermond R, Mallett A, McCarthy H. A clinical approach to tubulopathies in children and young adults. *Pediatr Nephrol*. 2023;38(3):651-62.
64. den Bakker E, Gemke R, Bokenkamp A. Endogenous markers for kidney function in children: a review. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2018;55(3):163-83.

65. Griffin BR, Faubel S, Edelstein CL. Biomarkers of Drug-Induced Kidney Toxicity. *Ther Drug Monit.* 2019;41(2):213-26.
66. Wen Y, Parikh CR. Current concepts and advances in biomarkers of acute kidney injury. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2021;58(5):354-68.
67. Vaidya VS, Ozer JS, Dieterle F, Collings FB, Ramirez V, Troth S, et al. Kidney injury molecule-1 outperforms traditional biomarkers of kidney injury in preclinical biomarker qualification studies. *Nat Biotechnol.* 2010;28(5):478-85.
68. Bonventre JV. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a urinary biomarker and much more. *Nephrol Dial Transplant.* 2009;24(11):3265-8.
69. Tan HL, Yap JQ, Qian Q. Acute Kidney Injury: Tubular Markers and Risk for Chronic Kidney Disease and End-Stage Kidney Failure. *Blood Purif.* 2016;41(1-3):144-50.
70. Ko GJ, Grigoryev DN, Linfert D, Jang HR, Watkins T, Cheadle C, et al. Transcriptional analysis of kidneys during repair from AKI reveals possible roles for NGAL and KIM-1 as biomarkers of AKI-to-CKD transition. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2010;298(6):F1472-83.
71. Ogier de Baulny H, Saudubray JM. Branched-chain organic acidurias. *Semin Neonatol.* 2002;7(1):65-74.
72. Baumgartner MR, Horster F, Dionisi-Vici C, Haliloglu G, Karall D, Chapman KA, et al. Proposed guidelines for the diagnosis and management of methylmalonic and propionic acidemia. *Orphanet J Rare Dis.* 2014;9:130.
73. Ozand PT, Rashed M, Gascon GG, Youssef NG, Harfi H, Rahbeeni Z, et al. Unusual presentations of propionic acidemia. *Brain Dev.* 1994;16 Suppl:46-57.
74. Shchelochkov OA, Manoli I, Sloan JL, Ferry S, Pass A, Van Ryzin C, et al. Chronic kidney disease in propionic acidemia. *Genet Med.* 2019;21(12):2830-5.
75. Saudubray J. Inborn Metabolic Diseases. In: JM Saudubray MRB, J Walter, editor. 2016. p. 279.
76. Lam C, Desviat LR, Perez-Cerda C, Ugarte M, Barshop BA, Cederbaum S. 45-Year-old female with propionic acidemia, renal failure, and premature ovarian failure; late complications of propionic acidemia? *Mol Genet Metab.* 2011;103(4):338-40.

77. Horster F, Garbade SF, Zwickler T, Aydin HI, Bodamer OA, Burlina AB, et al. Prediction of outcome in isolated methylmalonic acidurias: combined use of clinical and biochemical parameters. *J Inherit Metab Dis*. 2009;32(5):630.
78. Morath MA, Horster F, Sauer SW. Renal dysfunction in methylmalonic acidurias: review for the pediatric nephrologist. *Pediatr Nephrol*. 2013;28(2):227-35.
79. Forny P, Horster F, Ballhausen D, Chakrapani A, Chapman KA, Dionisi-Vici C, et al. Guidelines for the diagnosis and management of methylmalonic acidemia and propionic acidemia: First revision. *J Inherit Metab Dis*. 2021;44(3):566-92.
80. Rutledge SL, Geraghty M, Mroczek E, Rosenblatt D, Kohout E. Tubulointerstitial nephritis in methylmalonic acidemia. *Pediatr Nephrol*. 1993;7(1):81-2.
81. Haijes HA, Jans JJM, Tas SY, Verhoeven-Duif NM, van Hasselt PM. Pathophysiology of propionic and methylmalonic acidemias. Part 1: Complications. *J Inherit Metab Dis*. 2019;42(5):730-44.
82. Kruszka PS, Manoli I, Sloan JL, Kopp JB, Venditti CP. Renal growth in isolated methylmalonic acidemia. *Genet Med*. 2013;15(12):990-6.
83. Manoli I, Gebremariam A, McCoy S, Pass AR, Gagne J, Hall C, et al. Biomarkers to predict disease progression and therapeutic response in isolated methylmalonic acidemia. *J Inherit Metab Dis*. 2023;46(4):554-72.
84. Spiekerkoetter U. SSIEM 2022 Annual Symposium in Freiburg, Germany. *J Inherit Metab Dis*. 2023;46(5):759-60.
85. Poge AP, Autschbach F, Korall H, Trefz FK, Mayatepek E. Early clinical manifestation of glutaric aciduria type I and nephrotic syndrome during the first months of life. *Acta Paediatr*. 1997;86(10):1144-7.
86. Pode-Shakked B, Marek-Yagel D, Rubinshtein M, Pessach IM, Paret G, Volkov A, et al. Glutaric Aciduria type I and acute renal failure - Coincidence or causality? *Mol Genet Metab Rep*. 2014;1:170-5.
87. du Moulin M, Thies B, Blohm M, Oh J, Kemper MJ, Santer R, et al. Glutaric Aciduria Type 1 and Acute Renal Failure: Case Report and Suggested Pathomechanisms. *JIMD Rep*. 2018;39:25-30.

88. Braissant O, Jafari P, Remacle N, Cudre-Cung HP, Do Vale Pereira S, Ballhausen D. Immunolocalization of glutaryl-CoA dehydrogenase (GCDH) in adult and embryonic rat brain and peripheral tissues. *Neuroscience*. 2017;343:355-63.
89. Boy N, Muhlhausen C, Maier EM, Heringer J, Assmann B, Burgard P, et al. Proposed recommendations for diagnosing and managing individuals with glutaric aciduria type I: second revision. *J Inherit Metab Dis*. 2017;40(1):75-101.
90. Flynn JT, Kaelber DC, Baker-Smith CM, Blowey D, Carroll AE, Daniels SR, et al. Clinical Practice Guideline for Screening and Management of High Blood Pressure in Children and Adolescents. *Pediatrics*. 2017;140(3).
91. Rosner B, Cook N, Portman R, Daniels S, Falkner B. Determination of blood pressure percentiles in normal-weight children: some methodological issues. *Am J Epidemiol*. 2008;167(6):653-66.
92. Flack JM, Adekola B. Blood pressure and the new ACC/AHA hypertension guidelines. *Trends Cardiovasc Med*. 2020;30(3):160-4.
93. Thomas J, Stonebrook E, Kallash M. Pediatric hypertension: Review of the definition, diagnosis, and initial management. *Int J Pediatr Adolesc Med*. 2022;9(1):1-6.
94. Inker LA, Eneanya ND, Coresh J, Tighiouart H, Wang D, Sang Y, et al. New Creatinine- and Cystatin C-Based Equations to Estimate GFR without Race. *N Engl J Med*. 2021;385(19):1737-49.
95. Schwartz GJ, Munoz A, Schneider MF, Mak RH, Kaskel F, Warady BA, et al. New equations to estimate GFR in children with CKD. *J Am Soc Nephrol*. 2009;20(3):629-37.
96. Inker LA, Schmid CH, Tighiouart H, Eckfeldt JH, Feldman HI, Greene T, et al. Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C. *N Engl J Med*. 2012;367(1):20-9.
97. Schwartz GJ, Schneider MF, Maier PS, Moxey-Mims M, Dharnidharka VR, Warady BA, et al. Improved equations estimating GFR in children with chronic kidney disease using an immunonephelometric determination of cystatin C. *Kidney Int*. 2012;82(4):445-53.

98. Hogg RJ, Furth S, Lemley KV, Portman R, Schwartz GJ, Coresh J, et al. National Kidney Foundation's Kidney Disease Outcomes Quality Initiative clinical practice guidelines for chronic kidney disease in children and adolescents: evaluation, classification, and stratification. *Pediatrics*. 2003;111(6 Pt 1):1416-21.
99. Obrycki L, Sarnecki J, Lichosik M, Sopinska M, Placzynska M, Stanczyk M, et al. Kidney length normative values in children aged 0-19 years - a multicenter study. *Pediatr Nephrol*. 2022;37(5):1075-85.
100. Bozaci AE, Er E, Unal AT, Tas I, Ayaz E, Ozbek MN, et al. Glutaric aciduria and L-2-hydroxyglutaric aciduria: Clinical and molecular findings of 35 patients from Turkey. *Mol Genet Metab Rep*. 2023;36:100979.
101. Healy L, O'Shea M, McNulty J, King G, Twomey E, Treacy E, et al. Glutaric aciduria type 1: Diagnosis, clinical features and long-term outcome in a large cohort of 34 Irish patients. *JIMD Rep*. 2022;63(4):379-87.
102. Boy N, Mohr A, Garbade SF, Freisinger P, Heringer-Seifert J, Seitz A, et al. Subdural hematoma in glutaric aciduria type 1: High excretors are prone to incidental SDH despite newborn screening. *J Inherit Metab Dis*. 2021;44(6):1343-52.
103. Martner EMC, Thimm E, Guder P, Schiergens KA, Rutsch F, Roloff S, et al. The biochemical subtype is a predictor for cognitive function in glutaric aciduria type 1: a national prospective follow-up study. *Sci Rep*. 2021;11(1):19300.
104. Kyllerman M, Skjeldal O, Christensen E, Hagberg G, Holme E, Lonnquist T, et al. Long-term follow-up, neurological outcome and survival rate in 28 Nordic patients with glutaric aciduria type 1. *Eur J Paediatr Neurol*. 2004;8(3):121-9.
105. Twomey EL, Naughten ER, Donoghue VB, Ryan S. Neuroimaging findings in glutaric aciduria type 1. *Pediatr Radiol*. 2003;33(12):823-30.
106. Mohammad SA, Abdelkhalek HS, Ahmed KA, Zaki OK. Glutaric aciduria type 1: neuroimaging features with clinical correlation. *Pediatr Radiol*. 2015;45(11):1696-705.
107. Chalmers RA, Bain MD, Zschocke J. Riboflavin-responsive glutaryl CoA dehydrogenase deficiency. *Mol Genet Metab*. 2006;88(1):29-37.

108. Dao M, Arnoux JB, Bienaime F, Brassier A, Brazier F, Benoist JF, et al. Long-term renal outcome in methylmalonic acidemia in adolescents and adults. *Orphanet J Rare Dis.* 2021;16(1):220.
109. Shah A, Aeddula NR. Renal Osteodystrophy. *StatPearls.* Treasure Island (FL)2024.
110. Zhu JG, Cheng BC, Lee WC, Li LC, Lee CH, Long G, et al. Serum Alkaline Phosphatase Levels are Not Associated with Increased Death Risk in Prevalent Hemodialysis Patients: 5-Year Experience in a Single Hemodialysis Center. *Kidney Blood Press Res.* 2016;41(4):498-506.
111. Kidney Disease: Improving Global Outcomes CKD-MBDUWG. KDIGO 2017 Clinical Practice Guideline Update for the Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl* (2011). 2017;7(1):1-59.
112. Haider MZ, Aslam A. Proteinuria. *StatPearls.* Treasure Island (FL)2024.
113. Singh R, Bhalla K, Nanda S, Gupta A, Mehra S. Correlation of spot urinary protein: Creatinine ratio and quantitative proteinuria in pediatric patients with nephrotic syndrome. *J Family Med Prim Care.* 2019;8(7):2343-6.
114. Ren F, Li M, Xu H, Qin X, Teng Y. Urine albumin-to-creatinine ratio within the normal range and risk of hypertension in the general population: A meta-analysis. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2021;23(7):1284-90.
115. Singh A, Satchell SC. Microalbuminuria: causes and implications. *Pediatr Nephrol.* 2011;26(11):1957-65.
116. Abdelhafiz AH, Ahmed S, El Nahas M. Microalbuminuria: marker or maker of cardiovascular disease. *Nephron Exp Nephrol.* 2011;119 Suppl 1:e6-10.
117. Zeng X, Hossain D, Bostwick DG, Herrera GA, Zhang PL. Urinary beta2-Microglobulin Is a Good Indicator of Proximal Tubule Injury: A Correlative Study with Renal Biopsies. *J Biomark.* 2014;2014:492838.
118. Okamoto S, Matsuyama T, Hamada R, Morikawa Y, Tomotsune M, Kaneko T, et al. Reference values for urinary protein, albumin, beta 2-microglobulin, and the alpha 1-microglobulin-to-creatinine ratio in Japanese children. *Clin Exp Nephrol.* 2024;28(1):50-7.

119. Kudo K, Konta T, Mashima Y, Ichikawa K, Takasaki S, Ikeda A, et al. The association between renal tubular damage and rapid renal deterioration in the Japanese population: the Takahata study. *Clin Exp Nephrol*. 2011;15(2):235-41.
120. Kopfer F, Garbade SF, Klingbeil K, Schmidt-Mader B, Westhoff JH, Okun JG, et al. Kidney urinary biomarkers in patients with branched-chain amino acid and cobalamin metabolism defects. *J Inherit Metab Dis*. 2023;46(6):1078-88.
121. Kamianowska M, Kamianowska A, Wasilewska A. Urinary levels of kidney injury molecule-1 (KIM-1) and interleukin-18 (IL-18) in children and adolescents with hyperuricemia. *Adv Med Sci*. 2023;68(1):79-85.
122. Tomczak J, Wasilewska A, Milewski R. Urine NGAL and KIM-1 in children and adolescents with hyperuricemia. *Pediatr Nephrol*. 2013;28(9):1863-9.
123. Bennett MR, Nehus E, Haffner C, Ma Q, Devarajan P. Pediatric reference ranges for acute kidney injury biomarkers. *Pediatr Nephrol*. 2015;30(4):677-85.
124. Zwiers AJ, de Wildt SN, de Rijke YB, Willemsen SP, Abdullahi NS, Tibboel D, et al. Reference intervals for renal injury biomarkers neutrophil gelatinase-associated lipocalin and kidney injury molecule-1 in young infants. *Clin Chem Lab Med*. 2015;53(8):1279-89.
125. Abstracts. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 2022;45(S1):1-870.
126. Waikar SS, Sabbiseti V, Arnlov J, Carlsson AC, Coresh J, Feldman HI, et al. Relationship of proximal tubular injury to chronic kidney disease as assessed by urinary kidney injury molecule-1 in five cohort studies. *Nephrol Dial Transplant*. 2016;31(9):1460-70.
127. Singer E, Marko L, Paragas N, Barasch J, Dragun D, Muller DN, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: pathophysiology and clinical applications. *Acta Physiol (Oxf)*. 2013;207(4):663-72.
128. Cangemi G, Storti S, Cantinotti M, Fortunato A, Emdin M, Bruschettini M, et al. Reference values for urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in pediatric age measured with a fully automated chemiluminescent platform. *Clin Chem Lab Med*. 2013;51(5):1101-5.
129. Schaeffer C, Devuyst O, Rampoldi L. Uromodulin: Roles in Health and Disease. *Annu Rev Physiol*. 2021;83:477-501.

130. Garimella PS, Sarnak MJ. Uromodulin in kidney health and disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2017;26(2):136-42.
131. Bennett MR, Pyles O, Ma Q, Devarajan P. Preoperative levels of urinary uromodulin predict acute kidney injury after pediatric cardiopulmonary bypass surgery. *Pediatr Nephrol*. 2018;33(3):521-6.
132. Garimella PS, Bartz TM, Ix JH, Chonchol M, Shlipak MG, Devarajan P, et al. Urinary Uromodulin and Risk of Urinary Tract Infections: The Cardiovascular Health Study. *Am J Kidney Dis*. 2017;69(6):744-51.
133. Garg A, Jhobta A, Kapila S, Rathour D. Correlation of Sonographic Parameters with Renal Function in Patients with Newly Diagnosed Chronic Kidney Disease. *J Ultrason*. 2022;22(91):e216-e21.
134. K CT, Das SK, Shetty MS. Renal Resistive Index: Revisited. *Cureus*. 2023;15(3):e36091.
135. Fujii K, Nakayama I, Izawa J, Iida N, Seo Y, Yamamoto M, et al. Association between intrarenal venous flow from Doppler ultrasonography and acute kidney injury in patients with sepsis in critical care: a prospective, exploratory observational study. *Crit Care*. 2023;27(1):278.
136. Puzzovivo A, Monitillo F, Guida P, Leone M, Rizzo C, Grande D, et al. Renal Venous Pattern: A New Parameter for Predicting Prognosis in Heart Failure Outpatients. *J Cardiovasc Dev Dis*. 2018;5(4).

8. EKLER

EK-1: Etik kurul onayı


T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557 - 1104
Konu : ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 07 HAZİRAN 2022 SALI
Toplantı No : 2022/10
Proje No : GO 22/552 (Değerlendirme Tarihi: 07.06.2022)
Karar No : 2022/10-01

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Dr. Öğr. Üyesi Yılmaz YILDIZ'ın sorumlu araştırmacı olduğu, Prof. Dr. Ali DÜZÖVA, Prof. Dr. Berna OĞUZ, Prof. Dr. İncilay LAY ile birlikte çalışacakları ve Arş. Gör. Dr. Emir Furkan ÖNEN'in uzmanlık tezi olan, GO 22/552 kayıt numaralı "**Glutarik Asidüri Tip 1 Hastalarında Böbrek İşlevlerinin İncelenmesi**" başlıklı proje önerisi araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, 08 Haziran 2022 – 08 Haziran 2023 tarihleri arasında geçerli olmak üzere etik açıdan **uygun bulunmuştur**. Çalışma tamamlandığında sonuçlarını içeren bir rapor örneğinin Etik Kurulumuza gönderilmesi gerekmektedir.

1. Prof. Dr. G. Burça AYDIN (Başkan)	8. Doç. Dr. Betül Çelebi SALTİK (Üye)
2. Prof. Dr. M. Özgür UYANIK (Üye)	9. Doç. Dr. Hande Güney DENİZ (Üye)
3. Prof. Dr. Ayşe Kin İŞLER (Üye)	10. Doç. Dr. Merve BATUK (Üye)
4. Prof. Dr. Sibel PEHLİVAN (Üye)	11. Doç. Dr. Gülten KOÇ (Üye)
5. Prof. Dr. Nüket Paksoy ERBAYDAR (Üye)	12. Dr. Öğr. Üyesi Müge DEMİR (Üye)
6. Prof. Dr. Tolga YILDIRIM (Üye)	13. Av. Buket ÇINAR (Üye)
İZİNLİ	
7. Doç. Dr. H. Tuna Çak ESEN (Üye)	

EK-2: Veri toplama formu

Hasta dosyalarından ve anamnezden toplanacak veriler:

Hasta no:

Doğum tarihi:

Başvuru tarihi:

Başvurudaki yaş:

Cinsiyeti:

Tanı alma yaşı:

Tanı öncesi ensefalopati atağı sayısı:

Tanı sonrası ensefalopati atağı sayısı:

Tanı sırasında kan serbest karnitin düzeyi:

Tanı sırasında kan glutarilkarnitin düzeyi:

Tanı sırasında idrarda glutarik asit düzeyi:

Tanı sırasında idrarda 3-hidroksiglutarik asit düzeyi:

GA1 fenotipi ("high vs. low excretor"):

GCDH genotipi:

Eşlik eden başka hastalık varlığı:

Üriner sistem komorbiditeleri (varsa):

Mevcut yakınmaları:

Nörolojik muayene bulguları:

Kullanmakta olduğu ilaçlar ve dozları:

Geçmişte kullanmış olduğu ilaçlar (özellikle potansiyel nefrotoksinler):

Almakta olduğu diyetteki doğal protein içeriği:

Almakta olduğu diyetteki yapay protein içeriği (tibbi formuladan gelen):

Güncel boyu:

Güncel kilosu:

Ofis ölçüm kan basıncı

Rutin izlem ve tedavi kapsamında yapılacak olan laboratuvar tetkikleri:

Tam kan sayımı

Böbrek fonksiyon testleri (sodyum, potasyum, klor, magnezyum, kalsiyum, fosfor, albümin, kreatinin, protein, ürik asit, üre azotu)

Hesaplanmış glomerüler filtrasyon hızı

Karaciğer fonksiyon testleri (ALT, AST, GGT, ALP, direkt bilirubin, indirekt bilirubin, açlık kan şekeri)

Nütrisyonel değerlendirme (vitamin B12, ferritin, 25-OH-Vitamin D, prealbumin)

Venöz kan gazı

Tam idrar tahlili

Spot idrarda kreatinin, albümin ve protein

Spot idrarda sodyum, potasyum, klor, magnezyum, kalsiyum, fosfor

Kan serbest karnitin düzeyi:

Kan glutarilkarnitin düzeyi:

İdrarda glutarik asit düzeyi:

İdrarda 3-hidroksiglutarik asit düzeyi:

Çalışma amaçlı yapılacak olan tetkikler:

- Serum Sistatin C
- 24 saatlik kan basıncı (uyum sağlayabilen hastalarda):
 - 24 saatlik, uyku ve uyanıklık dönemleri için belirlenecek ölçütler:
 - Sistolik kan basıncı, diyastolik kan basıncı, ortalama arter basıncı ve nabız için ortalama ve standart sapma düzeyi
 - Sistolik kan basıncı, diyastolik kan basıncı, ortalama arter basıncı ve nabız için çökme düzeyi: $100 \times (\text{gündüz değeri} - \text{gece değeri}) / (\text{gece değeri})$
- Spot idrarda beta-2 mikroglobulin
- Spot idrarda ELISA ile (yaş ve cinsiyet eşleştirilmiş eşit sayıda kontrol ile birlikte, duplike çalışılarak; kit ve cihaz üreticilerinin önerdiği protokoller ile)
 - KIM-1 (*kidney injury molecule 1*),
 - NGAL (*neutrophil gelatinase-associated lipocalin*),
 - UMOD (*uromodulin*)

Radyolojik görüntüleme: Renal ve üriner sistem US ile Doppler US:

ÜRİNER SİSTEM US	Sağ böbrek		Sol böbrek	
Boyut longitudinal (mm)				
Boyut anteroposterior (mm)				
Boyut transvers (mm)				
Hacim				
Parankim kalınlığı üst pol				
Parankim kalınlığı orta düzey				
Parankim kalınlığı alt pol				
Konturu	Düzgün	Düzensiz	Düzgün	Düzensiz
Parankim ekojenitesi	Normal	Artmış	Normal	Artmış
Renal pelvis dilatasyonu	Yok	Var	Yok	Var
Pelvis anteroposterior çap (mm)				
Ekstrarenal pelvis görünümü	Yok	Var		
Kaliks dilatasyonu (mm)	Yok	Var	Yok	Var
Üreter dilatasyonu (mm)	Yok	Var	Yok	Var
Mesane duvar kalınlığı (mm)	Normal	Artmış ()	Normal	Artmış ()
RENAL ARTER DOPPLER US	Sağ böbrek		Sol böbrek	
İnterlobar arter RI				
İnterlobar arter PI				
İnterlobar arter ivme (cm/sn ²)				
İnterlobar arter ivme zamanı (msn)				
Renal arter akım hızı (cm/sn)				
Renal arter ivme (cm/sn ²)				
Renal arter ivme zamanı (msn)				
Görülebiliyorsa renal arter orjini	Normal	Daralmış	Normal	Daralmış
RENAL VEN DOPPLER US	Sağ böbrek		Sol böbrek	
Renal ven akım hızı (cm/sn)				
EK PATOLOJİ				

EK-3: KIM1, UMOD ve NGAL ölçümleri için üreticinin önerdiği protokoller


Cloud-Clone Corp.

SEA785Hu 96 Tests
Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit
For Kidney Injury Molecule 1 (KIM1)
Organism Species: Homo sapiens (Human)
Instruction manual

FOR RESEARCH USE ONLY
NOT FOR USE IN CLINICAL DIAGNOSTIC PROCEDURES

12th Edition

[INTENDED USE]

The kit is a sandwich enzyme immunoassay for in vitro quantitative measurement of KIM1 in human tissue homogenates, urine, cell culture supernates and other biological fluids.

[REAGENTS AND MATERIALS PROVIDED]

Reagents	Quantity	Reagents	Quantity
Pre-coated, ready to use 96-well strip plate	1	Plate sealer for 96 wells	4
Standard	2	Standard Diluent	1x20mL
Detection Reagent A	1x120µL	Assay Diluent A	1x12mL
Detection Reagent B	1x120µL	Assay Diluent B	1x12mL
TMB Substrate	1x9mL	Stop Solution	1x6mL
Wash Buffer (30 x concentrate)	1x20mL	Instruction manual	1

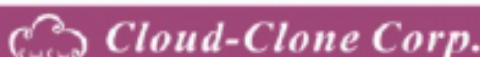
[MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED]

1. Microplate reader with 450 ± 10nm filter.
2. Single or multi-channel pipettes with high precision and disposable tips.
3. Microcentrifuge Tubes.
4. Deionized or distilled water.
5. Absorbent paper for blotting the microplate.
6. Container for Wash Solution.
7. 0.01mol/L (or 1x) Phosphate Buffered Saline(PBS), pH7.0-7.2.

[STORAGE OF THE KITS]

1. **For unused kit:** All the reagents should be kept according to the labels on vials. The **Standard**, **Detection Reagent A**, **Detection Reagent B** and the **96-well strip plate** should be stored at -20°C upon receipt while the others should be at 4°C.
2. **For used kit:** When the kit is used, the remaining reagents need to be stored according to the above storage condition. Besides, please return the unused wells to the foil pouch containing the desiccant pack, and zip-seal the foil pouch.

23603 W. Fernhurst Dr., Unit 2201, Katy, TX 77494, USA | 001-832-538-0970 | www.cloud-clone.us | mail@cloud-clone.us

**Note:**

It is highly recommended to use the remaining reagents within 1 month provided this is prior to the expiration date of the kit. For the expiration date of the kit, please refer to the label on the kit box. All components are stable up to the expiration date.

[SAMPLE COLLECTION AND STORAGE]

Tissue homogenates - The preparation of tissue homogenates will vary depending upon tissue type.

1. Tissues were rinsed in ice-cold PBS to remove excess blood thoroughly and weighed before homogenization.
2. Minced the tissues to small pieces and homogenized them in fresh lysis buffer (catalog: IS007, different lysis buffer needs to be chosen based on subcellular location of the target protein) (w/v = 1:20-1:50, e.g. 1mL lysis buffer is added in 20-50mg tissue sample) with a glass homogenizer on ice (Micro Tissue Grinders works, too).
3. The resulting suspension was sonicated with an ultrasonic cell disrupter till the solution is clarified.
4. Then, the homogenates were centrifuged for 5 minutes at 10,000×g. Collect the supernates and assay immediately or aliquot and store at $\leq -20^{\circ}\text{C}$.

Urine - Aseptically collect the first urine of the day (mid-stream), voided directly into a sterile container. Centrifuge to remove particulate matter, assay immediately or aliquot and store at $\leq -20^{\circ}\text{C}$. Avoid repeated freeze-thaw cycles.

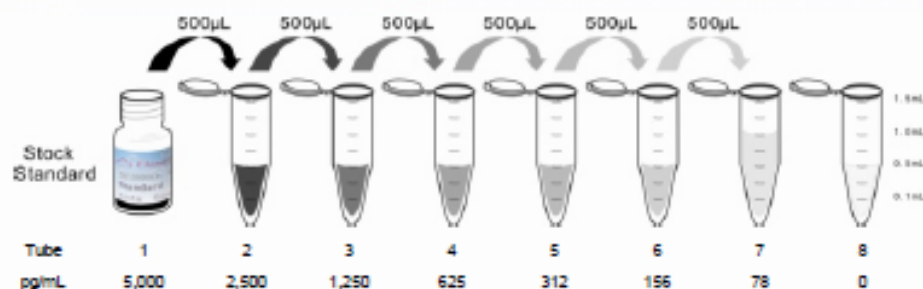
Cell culture supernates and other biological fluids - Centrifuge samples for 20 minutes at 1,000×g. Collect the supernates and assay immediately or store samples in aliquot at -20°C or -80°C for later use. Avoid repeated freeze/thaw cycles.

Note:

1. Samples to be used within 5 days may be stored at 4°C , otherwise samples must be stored at -20°C (≤ 1 month) or -80°C (≤ 2 months) to avoid loss of bioactivity and contamination.
2. Sample hemolysis will influence the result, so hemolytic specimen should not be used.
3. When performing the assay, bring samples to room temperature.

[REAGENT PREPARATION]

1. Bring all kit components and samples to room temperature ($18-25^{\circ}\text{C}$) before use. If the kit will not be used up in one time, please only take out strips and reagents for present experiment, and leave the remaining strips and reagents in required condition.
2. **Standard** - Reconstitute the Standard with 1.0mL of Standard Diluent, kept for 10 minutes at room temperature, shake gently(not to foam). The concentration of the standard in the stock solution is 5,000pg/mL. Please prepare 7 tubes containing 0.5mL Standard Diluent and produce a double dilution series according to the picture shown below. Mix each tube thoroughly before the next transfer. Set up 7 points of diluted standard such as 5,000pg/mL, 2,500pg/mL, 1,250pg/mL, 625pg/mL, 312pg/mL, 156pg/mL, 78pg/mL, and the last EP tube with Standard Diluent is the blank as 0pg/mL.



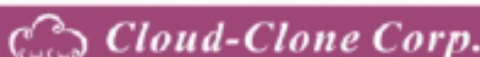
3. **Detection Reagent A and Detection Reagent B** - Briefly spin or centrifuge the stock Detection A and Detection B before use. Dilute them to the working concentration 100-fold with Assay Diluent A and B, respectively.
4. **Wash Solution** - Dilute 20mL of Wash Solution concentrate (30X) with 580mL of deionized or distilled water to prepare 600mL of Wash Solution (1X).
5. **TMB substrate** - Aspirate the needed dosage of the solution with sterilized tips and do not dump the residual solution into the vial again.

Note:

1. Making serial dilution in the wells directly is not permitted.
2. Prepare standards within 15 minutes before assay. Please do not dissolve the reagents at 37°C directly.
3. Please carefully reconstitute Standards or working Detection Reagent A and B according to the Instruction, and avoid foaming and mix gently until the crystals are completely dissolved. To minimize Imprecision caused by pipetting, use small volumes and ensure that pipettors are calibrated. It is recommended to suck more than 10µL for one pipetting.
4. The reconstituted Standards, Detection Reagent A and Detection Reagent B can be used **only once**.
5. If crystals have formed in the Wash Solution concentrate (30X), warm to room temperature and mix gently until the crystals are completely dissolved.
6. Contaminated water or container for reagent preparation will influence the detection result.

[SAMPLE PREPARATION]

1. We are only responsible for the kit itself, but not for the samples consumed during the assay. The user should calculate the possible amount of the samples used in the whole test. Please reserve sufficient samples in advance.
2. Please predict the concentration before assaying. If values for these are not within the range of the standard curve, users must determine the optimal sample dilutions for their particular experiments. Sample should be diluted by PBS.
3. If the samples are not indicated in the manual, a preliminary experiment to determine the validity of the kit is necessary.
4. Tissue or cell extraction samples prepared by chemical lysis buffer may cause unexpected ELISA results due to the impacts from certain chemicals.



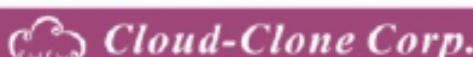
5. Due to the possibility of mismatching between antigen from other origin and antibody used in our kits (e.g., antibody targets conformational epitope rather than linear epitope), some native or recombinant proteins from other manufacturers may not be recognized by our products.
6. Influenced by the factors including cell viability, cell number or sampling time, samples from cell culture supernates may not be detected by the kit.
7. Fresh samples without long time storage is recommended for the test. Otherwise, protein degradation and denaturalization may occur in those samples and finally lead to wrong results.

[ASSAY PROCEDURE]

1. Determine wells for diluted standard, blank and sample. Prepare 7 wells for standard, 1 well for blank. Add 100µL each of dilutions of standard (read Reagent Preparation), blank and samples into the appropriate wells. Cover with the Plate sealer. Incubate for 1 hour at 37°C.
2. Remove the liquid of each well, don't wash.
3. Add 100µL of **Detection Reagent A** working solution to each well, cover the wells with the plate sealer and incubate for 1 hour at 37°C.
4. Aspirate the solution and wash with 350µL of 1× Wash Solution to each well using a squirt bottle, multi-channel pipette, manifold dispenser or autowasher, and let it sit for 1~2 minutes. Remove the remaining liquid from all wells completely by snapping the plate onto absorbent paper. Totally wash 3 times. After the last wash, remove any remaining Wash Buffer by aspirating or decanting. Invert the plate and blot it against absorbent paper.
5. Add 100µL of **Detection Reagent B** working solution to each well, cover the wells with the plate sealer and incubate for 30 minutes at 37°C.
6. Repeat the aspiration/wash process for total 5 times as conducted in step 4.
7. Add 90µL of **Substrate Solution** to each well. Cover with a new Plate sealer. Incubate for 10 - 20 minutes at 37°C (Don't exceed 30 minutes). Protect from light. The liquid will turn blue by the addition of Substrate Solution.
8. Add 50µL of **Stop Solution** to each well. The liquid will turn yellow by the addition of Stop solution. Mix the liquid by tapping the side of the plate. If color change does not appear uniform, gently tap the plate to ensure thorough mixing.
9. Remove any drop of water and fingerprint on the bottom of the plate and confirm there is no bubble on the surface of the liquid. Then, run the microplate reader and conduct measurement at 450nm immediately.

Note:

1. **Assay preparation:** Keep appropriate numbers of wells for each experiment and remove extra wells from microplate. Rest wells should be resealed and stored at -20°C.
2. **Samples or reagents addition:** Please use the freshly prepared Standard. Please carefully add samples to wells and mix gently to avoid foaming. Do not touch the well wall. For each step in the procedure, total dispensing time for addition of reagents or samples to the assay plate should not exceed 10 minutes. This will ensure equal elapsed time for each pipetting step, without interruption. Duplication of all standards and specimens, although not required, is recommended. To avoid cross-contamination, change pipette tips between additions of standards, samples, and reagents. Also, use separated reservoirs for each reagent.



3. **Incubation:** To ensure accurate results, proper adhesion of plate sealers during incubation steps is necessary. Do not allow wells to sit uncovered for extended periods between incubation steps. Once reagents are added to the well strips, DO NOT let the strips DRY at any time during the assay. Incubation time and temperature must be controlled.
4. **Washing:** The wash procedure is critical. Complete removal of liquid at each step is essential for good performance. After the last wash, remove any remaining Wash Solution by aspirating or decanting and remove any drop of water and fingerprint on the bottom of the plate. Insufficient washing will result in poor precision and false elevated absorbance reading.
5. **Controlling of reaction time:** Observe the change of color after adding TMB Substrate (e.g. observation once every 10 minutes), if the color is too deep, add Stop Solution in advance to avoid excessively strong reaction which will result in inaccurate absorbance reading.
6. **TMB Substrate** is easily contaminated. Please protect it from light.
7. The environment humidity which is less than 60% might have some effects on the final performance, therefore, a humidifier is recommended to be used at that condition.

[TEST PRINCIPLE]

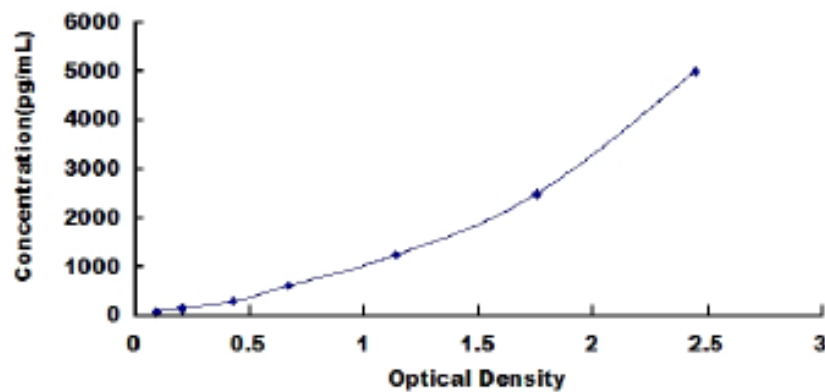
The microplate provided in this kit has been pre-coated with an antibody specific to Kim1. Standards or samples are then added to the appropriate microplate wells with a biotin-conjugated antibody specific to Kim1. Next, Avidin conjugated to Horseradish Peroxidase (HRP) is added to each microplate well and incubated. After TMB substrate solution is added, only those wells that contain Kim1, biotin-conjugated antibody and enzyme-conjugated Avidin will exhibit a change in color. The enzyme-substrate reaction is terminated by the addition of sulphuric acid solution and the color change is measured spectrophotometrically at a wavelength of 450nm $\pm$ 10nm. The concentration of Kim1 in the samples is then determined by comparing the O.D. of the samples to the standard curve.

[CALCULATION OF RESULTS]

Average the duplicate readings for each standard, control, and samples and subtract the average zero standard optical density. Construct a standard curve by plotting the mean O.D. and concentration for each standard and draw a best fit curve through the points on the graph or create a standard curve on log-log graph paper with Kim1 concentration on the y-axis and absorbance on the x-axis. Using some plot software, for instance, curve expert 1.30, is also recommended. If samples have been diluted, the concentration read from the standard curve must be multiplied by the dilution factor.

[TYPICAL DATA]

In order to make the calculation easier, we plot the O.D. value of the standard (X-axis) against the known concentration of the standard (Y-axis), although concentration is the independent variable and O.D. value is the dependent variable. However, the O.D. values of the standard curve may vary according to the conditions of assay performance (e.g. operator, pipetting technique, washing technique or temperature effects), plotting log of the data to establish standard curve for each test is recommended. Typical standard curve below is provided for reference only.



Typical Standard Curve for Kim1, Human ELISA.

[DETECTION RANGE]

78-5,000pg/mL. The standard curve concentrations used for the ELISA's were 5,000pg/mL, 2,500pg/mL, 1,250pg/mL, 625pg/mL, 312pg/mL, 156pg/mL, 78pg/mL.

[SENSITIVITY]

The minimum detectable dose of Kim1 is typically less than 32pg/mL.

The sensitivity of this assay, or Lower Limit of Detection (LLD) was defined as the lowest protein concentration that could be differentiated from zero. It was determined by adding two standard deviations to the mean optical density value of twenty zero standard replicates and calculating the corresponding concentration.

[SPECIFICITY]

This assay has high sensitivity and excellent specificity for detection of Kim1.

No significant cross-reactivity or interference between Kim1 and analogues was observed.

Note:

Limited by current skills and knowledge, it is impossible for us to complete the cross-reactivity detection between Kim1 and all the analogues, therefore, cross reaction may still exist.

[PRECISION]

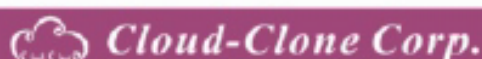
Intra-assay Precision (Precision within an assay): 3 samples with low, middle and high level Kim1 were tested 20 times on one plate, respectively.

Inter-assay Precision (Precision between assays): 3 samples with low, middle and high level Kim1 were tested on 3 different plates, 8 replicates in each plate.

$CV(\%) = \frac{SD}{\text{mean}} \times 100$

Intra-Assay: CV<10%

Inter-Assay: CV<12%



[STABILITY]

The stability of ELISA kit is determined by the loss rate of activity. The loss rate of this kit is less than 5% prior to the expiration date under appropriate storage condition.

To minimize extra influence on the performance, operation procedures and lab conditions, especially room temperature, air humidity, incubator temperature should be strictly monitored. It is also strongly suggested that the assay is performed by the same operator from the beginning to the end.

[ASSAY PROCEDURE SUMMARY]

1. Prepare all reagents, samples and standards;
2. Add 100 μ L standard or sample to each well. Incubate 1 hour at 37°C;
3. Aspirate and add 100 μ L prepared Detection Reagent A. Incubate 1 hour at 37°C;
4. Aspirate and wash 3 times;
5. Add 100 μ L prepared Detection Reagent B. Incubate 30 minutes at 37°C;
6. Aspirate and wash 5 times;
7. Add 90 μ L Substrate Solution. Incubate 10-20 minutes at 37°C;
8. Add 50 μ L Stop Solution. Read at 450nm immediately.

[IMPORTANT NOTE]

1. Limited by the current conditions and scientific technology, we can't completely conduct the comprehensive identification and analysis on the raw material provided by suppliers. So there might be some qualitative and technical risks to use the kit.
2. The final experimental results will be closely related to validity of the products, so the kit should be used prior to the expiration date. And please store the kits exactly according to the instruction.
3. Kits from different batches may be a little different in detection range, sensitivity and color developing time. Please perform the experiment exactly according to the instruction attached in kit while electronic ones from our website is only for reference.
4. Do not mix or substitute reagents from one kit lot to another. Use only the reagents supplied by manufacturer.
5. Protect all reagents from strong light during storage and incubation. All the bottle caps of reagents should be covered tightly to prevent the evaporation and contamination of microorganism. TMB Substrate should remain colorless till it is reacted with the enzyme which binds to the microplate.
6. There may be some foggy substance in the wells when the plate is opened at the first time. It will not have any effect on the final assay results. Do not remove microplate from the storage bag until needed.
7. Wrong operations during the reagents preparation and loading, as well as incorrect parameter setting for the plate reader may lead to incorrect results. A microplate reader with a bandwidth of 10nm or less and an optical density range of 0-3 O.D. at 450 $\pm$ 10nm wavelength is acceptable for use in absorbance measurement. Please read the instruction carefully and adjust the instrument prior to the experiment.
8. Variation in sample preparation and each step of experimental operation may cause different results. In order to get better reproducible results, the operation of each step in the assay should be controlled.
9. Each kit has been strictly passed Q.C test. However, results from end users might be inconsistent with our in-house data due to some unexpected transportation conditions or different lab equipments. Intra-assay variance among kits from different batches might arise from above factors, too.



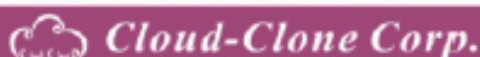
10. Kits from different manufacturers with the same item might produce different results, since we haven't compared our products with other manufacturers.
11. The standard of the kit and immunogen used for antibody preparation are commonly recombinant proteins, as different fragments, expression systems, purification methods might be used in recombinant protein preparation, we can not guarantee the kit could detect recombinant protein from other companies. So, it is not recommended to use the kit for the detection of recombinant protein.
12. Please predict the concentration of target molecules in samples, or arrange a preliminary experiment, it is a good way to solve specific problem, e.g. the concentration of samples are beyond the detection range of the kit.
13. The kit might not be suitable for detection of samples from some special experiment, for instance, knock-out experiments, due to their uncertainty of effectiveness.
14. The instruction manual is also for the kit of 48T, but all reagents of 48T kit are reduced by half.
15. The kit is designed for research use only, we will not be responsible for any issue if the kit was used in clinical diagnostic or any other procedures.

[PRECAUTION]

The Stop Solution suggested for use with this kit is an acid solution. Wear eye, hand, face, and clothing protection when using this material.

[TROUBLE SHOOTING]

Problem	Possible Source	Correction Action
Poor Standard Curve	Inproper standard curve preparation	Ensure accurate operation of the dilution
	Incomplete washing and aspiration	Adequate washing and adequate aspiration
	Inaccurate Pipetting	Check and Calibrate pipettes
Poor Precision	Incomplete washing of wells	Ensure sufficient washing
	Inadequate mixing and aspiration reagents	Adequate aspiration and mixing reagents
	Reused pipette tips, containers and sealers	Change and use new pipette tips, containers and sealers
Low O.D Values	Inaccurate Pipetting	Check and Calibrate pipettes
	Inadequate reagent volumes added to wells	Calibrate pipettes and Add adequate reagents
	Incorrect incubation times	Ensure sufficient incubation times
	Incorrect incubation temperature	Reagents balanced to room temperature
	Conjugate or substrate reagent failure	Mix conjugate & substrate, color should develop immediately
	No stop solution added	Follow the assay protocol in the kit manual
Sample Values	Read beyond suggested reading time	Read within the time recommended in the manual
	Improper Sample Storage	Store the sample properly and use the fresh sample
	Improper sample collection and preparation	Take proper sample collection and preparation method
	Low quantity of analyte in samples	Use new sample and repeat assay



SEB388Hu 96 Tests
Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit
For Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin (NGAL)
Organism Species: *Homo sapiens* (Human)
Instruction manual

FOR RESEARCH USE ONLY
NOT FOR USE IN CLINICAL DIAGNOSTIC PROCEDURES

12th Edition

[INTENDED USE]

The kit is a sandwich enzyme immunoassay for in vitro quantitative measurement of NGAL in human serum, plasma, urine, tissue homogenates, cell lysates, cell culture supernates and other biological fluids.

[REAGENTS AND MATERIALS PROVIDED]

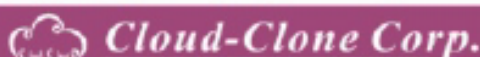
Reagents	Quantity	Reagents	Quantity
Pre-coated, ready to use 96-well strip plate	1	Plate sealer for 96 wells	4
Standard	2	Standard Diluent	1×20mL
Detection Reagent A	1×120μL	Assay Diluent A	1×12mL
Detection Reagent B	1×120μL	Assay Diluent B	1×12mL
TMB Substrate	1×9mL	Stop Solution	1×6mL
Wash Buffer (30 × concentrate)	1×20mL	Instruction manual	1

[MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED]

1. Microplate reader with 450 ± 10nm filter.
2. Single or multi-channel pipettes with high precision and disposable tips.
3. Microcentrifuge Tubes.
4. Deionized or distilled water.
5. Absorbent paper for blotting the microplate.
6. Container for Wash Solution.
7. 0.01mol/L (or 1×) Phosphate Buffered Saline(PBS), pH7.0-7.2.

[STORAGE OF THE KITS]

1. For unused kit: All the reagents should be kept according to the labels on vials. The Standard, Detection Reagent A, Detection Reagent B and the 96-well strip plate should be stored at -20°C upon receipt while the others should be at 4°C.
2. For used kit: When the kit is used, the remaining reagents need to be stored according to the above storage condition. Besides, please return the unused wells to the foil pouch containing the desiccant pack, and zip-seal the foil pouch.

**Note:**

It is highly recommended to use the remaining reagents within 1 month provided this is prior to the expiration date of the kit. For the expiration date of the kit, please refer to the label on the kit box. All components are stable up to the expiration date.

[SAMPLE COLLECTION AND STORAGE]

Serum - Use a serum separator tube and allow samples to clot for two hours at room temperature or overnight at 4°C before centrifugation for 20 minutes at approximately 1,000×g. Assay freshly prepared serum immediately or store samples in aliquot at -20°C or -80°C for later use. Avoid repeated freeze/thaw cycles.

Plasma - Collect plasma using EDTA or heparin as an anticoagulant. Centrifuge samples for 15 minutes at 1,000×g at 2-8°C within 30 minutes of collection. Remove plasma and assay immediately or store samples in aliquot at -20°C or -80°C for later use. Avoid repeated freeze/thaw cycles.

Urine - Aseptically collect the first urine of the day (mid-stream), voided directly into a sterile container. Centrifuge to remove particulate matter, assay immediately or aliquot and store at ≤-20°C. Avoid repeated freeze-thaw cycles.

Tissue homogenates - The preparation of tissue homogenates will vary depending upon tissue type.

1. Tissues were rinsed in ice-cold PBS to remove excess blood thoroughly and weighed before homogenization.
2. Minced the tissues to small pieces and homogenized them in fresh lysis buffer (catalog: IS007, different lysis buffer needs to be chosen based on subcellular location of the target protein) (w/v = 1:20-1:50, e.g. 1mL lysis buffer is added in 20-50mg tissue sample) with a glass homogenizer on ice (Micro Tissue Grinders works, too).
3. The resulting suspension was sonicated with an ultrasonic cell disrupter till the solution is clarified.
4. Then, the homogenates were centrifuged for 5 minutes at 10,000×g. Collect the supernates and assay immediately or aliquot and store at ≤-20°C.

Cell Lysates - Cells need to be lysed before assaying according to the following directions.

1. Adherent cells should be washed by cold PBS gently, and then detached with trypsin, and collected by centrifugation at 1,000×g for 5 minutes (suspension cells can be collected by centrifugation directly).
2. Wash cells three times in cold PBS.
3. Resuspend cells in fresh lysis buffer with concentration of 10⁷ cells/mL. If it is necessary, the cells could be subjected to ultrasonication till the solution is clarified.
4. Centrifuge at 1,500×g for 10 minutes at 2-8°C to remove cellular debris. Assay immediately or aliquot and store at ≤-20°C.

Cell culture supernates and other biological fluids - Centrifuge samples for 20 minutes at 1,000×g. Collect the supernates and assay immediately or store samples in aliquot at -20°C or -80°C for later use. Avoid repeated freeze/thaw cycles.

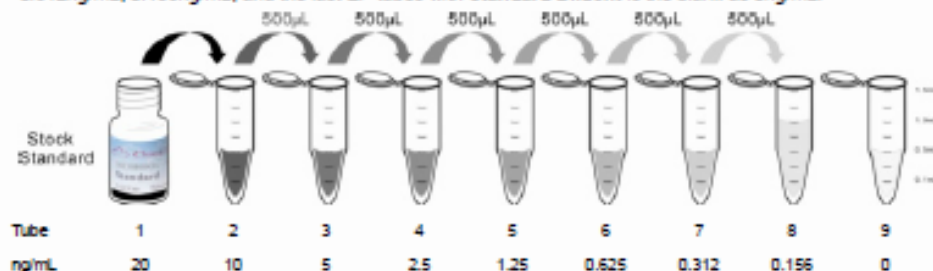
Note:

1. Samples to be used within 5 days may be stored at 4°C, otherwise samples must be stored at -20°C (≤1 month) or -80°C (≤2 months) to avoid loss of bioactivity and contamination.
2. Sample hemolysis will influence the result, so hemolytic specimen should not be used.
3. When performing the assay, bring samples to room temperature.
4. It is highly recommended to use serum instead of plasma for the detection based on quantity of our in-house data.



[REAGENT PREPARATION]

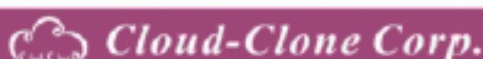
1. Bring all kit components and samples to room temperature (18-25°C) before use. If the kit will not be used up in one time, please only take out strips and reagents for present experiment, and leave the remaining strips and reagents in required condition.
2. **Standard** - Reconstitute the **Standard** with 1.0mL of **Standard Diluent**, kept for 10 minutes at room temperature, shake gently(not to foam). The concentration of the standard in the stock solution is 20ng/mL. Please firstly dilute the stock solution to 10ng/mL and the diluted standard serves as the highest standard (10ng/mL). Then prepare 7 tubes containing 0.5mL **Standard Diluent** and use the diluted standard to produce a double dilution series according to the picture shown below. Mix each tube thoroughly before the next transfer. Set up 7 points of diluted standard such as 10ng/mL, 5ng/mL, 2.5ng/mL, 1.25ng/mL, 0.625ng/mL, 0.312ng/mL, 0.156ng/mL, and the last EP tubes with **Standard Diluent** is the blank as 0ng/mL.



3. **Detection Reagent A and Detection Reagent B** - Briefly spin or centrifuge the stock **Detection A** and **Detection B** before use. Dilute them to the working concentration 100-fold with **Assay Diluent A** and **B**, respectively.
4. **Wash Solution** - Dilute 20mL of **Wash Solution concentrate (30X)** with 580mL of deionized or distilled water to prepare 600mL of **Wash Solution (1X)**.
5. **TMB substrate** - Aspirate the needed dosage of the solution with sterilized tips and do not dump the residual solution into the vial again.

Note:

1. Making serial dilution in the wells directly is not permitted.
2. Prepare standards within 15 minutes before assay. Please do not dissolve the reagents at 37°C directly.
3. Please carefully reconstitute Standards or working **Detection Reagent A** and **B** according to the Instruction, and avoid foaming and mix gently until the crystals are completely dissolved. To minimize Imprecision caused by pipetting, use small volumes and ensure that pipettors are calibrated. It is recommended to suck more than 10µL for one pipetting.
4. The reconstituted Standards, **Detection Reagent A** and **Detection Reagent B** can be used only once.
5. If crystals have formed in the **Wash Solution concentrate (30X)**, warm to room temperature and mix gently until the crystals are completely dissolved.
6. Contaminated water or container for reagent preparation will influence the detection result.



[SAMPLE PREPARATION]

1. We are only responsible for the kit itself, but not for the samples consumed during the assay. The user should calculate the possible amount of the samples used in the whole test. Please reserve sufficient samples in advance.
2. Please predict the concentration before assaying. If values for these are not within the range of the standard curve, users must determine the optimal sample dilutions for their particular experiments.
3. Serum/plasma samples require about a 100 fold dilution. A suggested 100-fold dilution is 10 μ L Sample + 990 μ L PBS. Sample should be diluted by 0.01 mol/L PBS (PH=7.0-7.2).
4. If the samples are not indicated in the manual, a preliminary experiment to determine the validity of the kit is necessary.
5. Tissue or cell extraction samples prepared by chemical lysis buffer may cause unexpected ELISA results due to the impacts from certain chemicals.
6. Due to the possibility of mismatching between antigen from other origin and antibody used in our kits (e.g., antibody targets conformational epitope rather than linear epitope), some native or recombinant proteins from other manufacturers may not be recognized by our products.
7. Influenced by the factors including cell viability, cell number or sampling time, samples from cell culture supernates may not be detected by the kit.
8. Fresh samples without long time storage is recommended for the test. Otherwise, protein degradation and denaturalization may occur in those samples and finally lead to wrong results.

[ASSAY PROCEDURE]

1. Determine wells for diluted standard, blank and sample. Prepare 7 wells for standard, 1 well for blank. Add 100 μ L each of dilutions of standard (read Reagent Preparation), blank and samples into the appropriate wells. Cover with the Plate sealer. Incubate for 1 hour at 37°C.
2. Remove the liquid of each well, don't wash.
3. Add 100 μ L of **Detection Reagent A** working solution to each well, cover the wells with the plate sealer and incubate for 1 hour at 37°C.
4. Aspirate the solution and wash with 350 μ L of 1X Wash Solution to each well using a squirt bottle, multi-channel pipette, manifold dispenser or autowasher, and let it sit for 1-2 minutes. Remove the remaining liquid from all wells completely by snapping the plate onto absorbent paper. Totally wash 3 times. After the last wash, remove any remaining Wash Buffer by aspirating or decanting. Invert the plate and blot it against absorbent paper.
5. Add 100 μ L of **Detection Reagent B** working solution to each well, cover the wells with the plate sealer and incubate for 30 minutes at 37°C.
6. Repeat the aspiration/wash process for total 5 times as conducted in step 4.
7. Add 90 μ L of **Substrate Solution** to each well. Cover with a new Plate sealer. Incubate for 10 - 20 minutes at 37°C (Don't exceed 30 minutes). Protect from light. The liquid will turn blue by the addition of Substrate Solution.



8. Add 50µL of **Stop Solution** to each well. The liquid will turn yellow by the addition of Stop solution. Mix the liquid by tapping the side of the plate. If color change does not appear uniform, gently tap the plate to ensure thorough mixing.
9. Remove any drop of water and fingerprint on the bottom of the plate and confirm there is no bubble on the surface of the liquid. Then, run the microplate reader and conduct measurement at 450nm immediately.

Note:

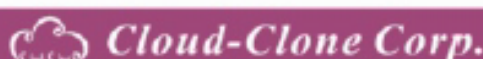
1. **Assay preparation:** Keep appropriate numbers of wells for each experiment and remove extra wells from microplate. Rest wells should be resealed and stored at -20°C.
2. **Samples or reagents addition:** Please use the freshly prepared Standard. Please carefully add samples to wells and mix gently to avoid foaming. Do not touch the well wall. For each step in the procedure, total dispensing time for addition of reagents or samples to the assay plate should not exceed 10 minutes. This will ensure equal elapsed time for each pipetting step, without interruption. Duplication of all standards and specimens, although not required, is recommended. To avoid cross-contamination, change pipette tips between additions of standards, samples, and reagents. Also, use separated reservoirs for each reagent.
3. **Incubation:** To ensure accurate results, proper adhesion of plate sealers during incubation steps is necessary. Do not allow wells to sit uncovered for extended periods between incubation steps. Once reagents are added to the well strips, DO NOT let the strips DRY at any time during the assay. Incubation time and temperature must be controlled.
4. **Washing:** The wash procedure is critical. Complete removal of liquid at each step is essential for good performance. After the last wash, remove any remaining Wash Solution by aspirating or decanting and remove any drop of water and fingerprint on the bottom of the plate. Insufficient washing will result in poor precision and false elevated absorbance reading.
5. **Controlling of reaction time:** Observe the change of color after adding TMB Substrate (e.g. observation once every 10 minutes). If the color is too deep, add Stop Solution in advance to avoid excessively strong reaction which will result in inaccurate absorbance reading.
6. **TMB Substrate** is easily contaminated. Please protect it from light.
7. The environment humidity which is less than 60% might have some effects on the final performance, therefore, a humidifier is recommended to be used at that condition.

[TEST PRINCIPLE]

The microplate provided in this kit has been pre-coated with an antibody specific to NGAL. Standards or samples are then added to the appropriate microplate wells with a biotin-conjugated antibody specific to NGAL. Next, Avidin conjugated to Horseradish Peroxidase (HRP) is added to each microplate well and incubated. After TMB substrate solution is added, only those wells that contain NGAL, biotin-conjugated antibody and enzyme-conjugated Avidin will exhibit a change in color. The enzyme-substrate reaction is terminated by the addition of sulphuric acid solution and the color change is measured spectrophotometrically at a wavelength of 450nm ± 10nm. The concentration of NGAL in the samples is then determined by comparing the O.D. of the samples to the standard curve.

[CALCULATION OF RESULTS]

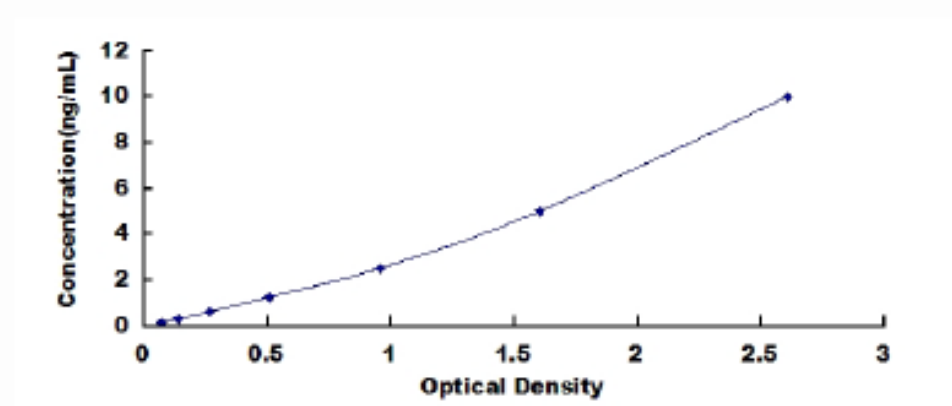
Average the duplicate readings for each standard, control, and samples and subtract the average zero standard optical density. Construct a standard curve by plotting the mean O.D. and concentration for each standard and



draw a best fit curve through the points on the graph or create a standard curve on log-log graph paper with NGAL concentration on the y-axis and absorbance on the x-axis. Using some plot software, for instance, curve expert 1.30, is also recommended. If samples have been diluted, the concentration read from the standard curve must be multiplied by the dilution factor.

[TYPICAL DATA]

In order to make the calculation easier, we plot the O.D. value of the standard (X-axis) against the known concentration of the standard (Y-axis), although concentration is the Independent variable and O.D. value is the dependent variable. However, the O.D. values of the standard curve may vary according to the conditions of assay performance (e.g. operator, pipetting technique, washing technique or temperature effects), plotting log of the data to establish standard curve for each test is recommended. Typical standard curve below is provided for reference only.



Typical Standard Curve for NGAL, Human ELISA.

[DETECTION RANGE]

0.156-10ng/mL. The standard curve concentrations used for the ELISA's were 10ng/mL, 5ng/mL, 2.5ng/mL, 1.25ng/mL, 0.625ng/mL, 0.312ng/mL, 0.156ng/mL.

[SENSITIVITY]

The minimum detectable dose of NGAL is typically less than 0.065ng/mL.

The sensitivity of this assay, or Lower Limit of Detection (LLD) was defined as the lowest protein concentration that could be differentiated from zero. It was determined by adding two standard deviations to the mean optical density value of twenty zero standard replicates and calculating the corresponding concentration.

[SPECIFICITY]

This assay has high sensitivity and excellent specificity for detection of NGAL.

No significant cross-reactivity or interference between NGAL and analogues was observed.


Note:

Limited by current skills and knowledge, it is impossible for us to complete the cross-reactivity detection between NGAL and all the analogues, therefore, cross reaction may still exist.

[RECOVERY]

Matrices listed below were spiked with certain level of recombinant NGAL and the recovery rates were calculated by comparing the measured value to the expected amount of NGAL in samples.

Matrix	Recovery range (%)	Average(%)
serum(n=5)	81-95	87
EDTA plasma(n=5)	93-105	101
heparin plasma(n=5)	87-99	94

[LINEARITY]

The linearity of the kit was assayed by testing samples spiked with appropriate concentration of NGAL and their serial dilutions. The results were demonstrated by the percentage of calculated concentration to the expected.

Sample	1: 2	1: 4	1: 8	1: 16
serum(n=5)	81-92%	90-99%	83-103%	82-90%
EDTA plasma(n=5)	89-103%	81-101%	99-105%	88-95%
heparin plasma(n=5)	79-90%	83-94%	85-95%	87-104%

Samples were diluted prior to assay as described in the SAMPLE PREPARATION section.

[PRECISION]

Intra-assay Precision (Precision within an assay): 3 samples with low, middle and high level NGAL were tested 20 times on one plate, respectively.

Inter-assay Precision (Precision between assays): 3 samples with low, middle and high level NGAL were tested on 3 different plates, 8 replicates in each plate.

CV(%) = SD/meanX100

Intra-Assay: CV<10%

Inter-Assay: CV<12%

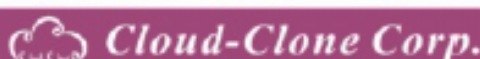
[STABILITY]

The stability of ELISA kit is determined by the loss rate of activity. The loss rate of this kit is less than 5% prior to the expiration date under appropriate storage condition.

To minimize extra influence on the performance, operation procedures and lab conditions, especially room temperature, air humidity, incubator temperature should be strictly monitored. It is also strongly suggested that the assay is performed by the same operator from the beginning to the end.

[SAMPLE VALUE]

Serum/Plasma - Samples from apparently healthy volunteers were evaluated in this assay. No medical histories were available for the volunteers used in this assay.



Sample	Range(ng/mL)	Detectable(%)
Serum (n=48)	41.2-350.6	100
EDTA plasma (n=20)	61.2-280.3	100
Heparin plasma (n=20)	58.3-295.6	100

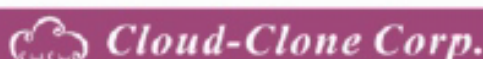
These data are our in-house data, only for reference.

[ASSAY PROCEDURE SUMMARY]

1. Prepare all reagents, samples and standards;
2. Add 100 μ L standard or sample to each well. Incubate 1 hour at 37°C;
3. Aspirate and add 100 μ L prepared Detection Reagent A. Incubate 1 hour at 37°C;
4. Aspirate and wash 3 times;
5. Add 100 μ L prepared Detection Reagent B. Incubate 30 minutes at 37°C;
6. Aspirate and wash 5 times;
7. Add 90 μ L Substrate Solution. Incubate 10-20 minutes at 37°C;
8. Add 50 μ L Stop Solution. Read at 450nm Immediately.

[IMPORTANT NOTE]

1. Limited by the current conditions and scientific technology, we can't completely conduct the comprehensive identification and analysis on the raw material provided by suppliers. So there might be some qualitative and technical risks to use the kit.
2. The final experimental results will be closely related to validity of the products, so the kit should be used prior to the expiration date. And please store the kits exactly according to the instruction.
3. Kits from different batches may be a little different in detection range, sensitivity and color developing time. Please perform the experiment exactly according to the instruction attached in kit while electronic ones from our website is only for reference.
4. Do not mix or substitute reagents from one kit lot to another. Use only the reagents supplied by manufacturer.
5. Protect all reagents from strong light during storage and incubation. All the bottle caps of reagents should be covered tightly to prevent the evaporation and contamination of microorganism. TMB Substrate should remain colorless till it is reacted with the enzyme which binds to the microplate.
6. There may be some foggy substance in the wells when the plate is opened at the first time. It will not have any effect on the final assay results. Do not remove microplate from the storage bag until needed.
7. Wrong operations during the reagents preparation and loading, as well as incorrect parameter setting for the plate reader may lead to incorrect results. A microplate reader with a bandwidth of 10nm or less and an optical density range of 0-3 O.D. at 450 $\pm$ 10nm wavelength is acceptable for use in absorbance measurement. Please read the instruction carefully and adjust the instrument prior to the experiment.
8. Variation in sample preparation and each step of experimental operation may cause different results. In order to get better reproducible results, the operation of each step in the assay should be controlled.
9. Each kit has been strictly passed Q.C test. However, results from end users might be inconsistent with our in-house data due to some unexpected transportation conditions or different lab equipments. Intra-assay variance among kits from different batches might arise from above factors, too.



10. Kits from different manufacturers with the same item might produce different results, since we haven't compared our products with other manufacturers.
11. The standard of the kit and immunogen used for antibody preparation are commonly recombinant proteins, as different fragments, expression systems, purification methods might be used in recombinant protein preparation, we can not guarantee the kit could detect recombinant protein from other companies. So, it is not recommended to use the kit for the detection of recombinant protein.
12. Please predict the concentration of target molecules in samples, or arrange a preliminary experiment, it is a good way to solve specific problem, e.g. the concentration of samples are beyond the detection range of the kit.
13. The kit might not be suitable for detection of samples from some special experiment, for instance, knock-out experiments, due to their uncertainty of effectiveness.
14. The instruction manual is also for the kit of 48T, but all reagents of 48T kit are reduced by half.
15. The kit is designed for research use only, we will not be responsible for any issue if the kit was used in clinical diagnostic or any other procedures.

[PRECAUTION]

The Stop Solution suggested for use with this kit is an acid solution. Wear eye, hand, face, and clothing protection when using this material.

[TROUBLE SHOOTING]

Problem	Possible Source	Correction Action
Poor Standard Curve	Improper standard curve preparation	Ensure accurate operation of the dilution
	Incomplete washing and aspiration	Adequate washing and adequate aspiration
	Inaccurate Pipetting	Check and Calibrate pipettes
Poor Precision	Incomplete washing of wells	Ensure sufficient washing
	Inadequate mixing and aspiration reagents	Adequate aspiration and mixing reagents
	Reused pipette tips, containers and sealers	Change and use new pipette tips, containers and sealers
	Inaccurate Pipetting	Check and Calibrate pipettes
Low O.D Values	Inadequate reagent volumes added to wells	Calibrate pipettes and Add adequate reagents
	Incorrect incubation times	Ensure sufficient incubation times
	Incorrect incubation temperature	Reagents balanced to room temperature
	Conjugate or substrate reagent failure	Mix conjugate & substrate, color should develop immediately
	No stop solution added	Follow the assay protocol in the kit manual
	Read beyond suggested reading time	Read within the time recommended in the manual
Sample Values	Improper Sample Storage	Store the sample properly and use the fresh sample
	Improper sample collection and preparation	Take proper sample collection and preparation method
	Low quantity of analyte in samples	Use new sample and repeat assay


Cloud-Clone Corp.

SEG918Hu 96 Tests
 Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit
 For Uromodulin (UMOD)
 Organism Species: *Homo sapiens* (Human)
Instruction manual

FOR RESEARCH USE ONLY
 NOT FOR USE IN CLINICAL DIAGNOSTIC PROCEDURES

Version 13.0

[INTENDED USE]

The kit is a sandwich enzyme immunoassay for in vitro quantitative measurement of uromodulin in human tissue homogenates, cell lysates and other biological fluids.

[REAGENTS AND MATERIALS PROVIDED]

Reagents	Quantity	Reagents	Quantity
Pre-coated, ready to use 96-well strip plate	1	Plate sealer for 96 wells	4
Standard	2	Standard Diluent	1X20mL
Detection Reagent A	1X120μL	Assay Diluent A	1X12mL
Detection Reagent B	1X120μL	Assay Diluent B	1X12mL
TMB Substrate	1X9mL	Stop Solution	1X6mL
Wash Buffer (30 X concentrate)	1X20mL	Instruction manual	1

[MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED]

1. Microplate reader with 450 ± 10nm filter.
2. Single or multi-channel pipettes with high precision and disposable tips.
3. Microcentrifuge Tubes.
4. Deionized or distilled water.
5. Absorbent paper for blotting the microplate.
6. Container for Wash Solution.
7. 0.01mol/L (or 1X) Phosphate Buffered Saline(PBS), pH7.0-7.2.

[STORAGE OF THE KITS]

1. For **unused kit**: The whole kit could be stored at -20°C in shelf life, while up to one month at 4°C. For experiment convenience, reagents could also be stored separately. **Standard**, **Detection Reagent A**, **Detection Reagent B** and **96-well strip plate** should be stored at -20°C while the others could be at 4 °C.
2. For **used kit**: When the kit is used, the remaining reagents need to be stored according to the above storage condition. Besides, please return the unused wells to the foil pouch containing the desiccant pack, and zip-seal the foil pouch.

Note:

It is highly recommended to use the remaining reagents within 1 month provided this is prior to the expiration date of the kit. For the expiration date of the kit, please refer to the label on the kit box. All components are stable up to the expiration date.



[SAMPLE COLLECTION AND STORAGE]

Tissue homogenates - The preparation of tissue homogenates will vary depending upon tissue type.

1. Tissues were rinsed in ice-cold PBS to remove excess blood thoroughly and weighed before homogenization.
2. Minced the tissues to small pieces and homogenized them in fresh lysis buffer (catalog: IS007, different lysis buffer needs to be chosen based on subcellular location of the target protein) (w/v = 1:20-1:50, e.g. 1mL lysis buffer is added in 20-50mg tissue sample) with a glass homogenizer on ice (Micro Tissue Grinders works, too).
3. The resulting suspension was sonicated with an ultrasonic cell disrupter till the solution is clarified.
4. Then, the homogenates were centrifuged for 5 minutes at 10,000 $\times$ g. Collect the supernates and assay immediately or aliquot and store at $\leq -20^{\circ}\text{C}$.

Cell Lysates - Cells need to be lysed before assaying according to the following directions.

1. Adherent cells should be washed by cold PBS gently, and then detached with trypsin, and collected by centrifugation at 1,000 $\times$ g for 5 minutes (suspension cells can be collected by centrifugation directly).
2. Wash cells three times in cold PBS.
3. Resuspend cells in fresh lysis buffer with concentration of 10^7 cells/mL. If it is necessary, the cells could be subjected to ultrasonication till the solution is clarified.
4. Centrifuge at 1,500 $\times$ g for 10 minutes at $2-8^{\circ}\text{C}$ to remove cellular debris. Assay immediately or aliquot and store at $\leq -20^{\circ}\text{C}$.

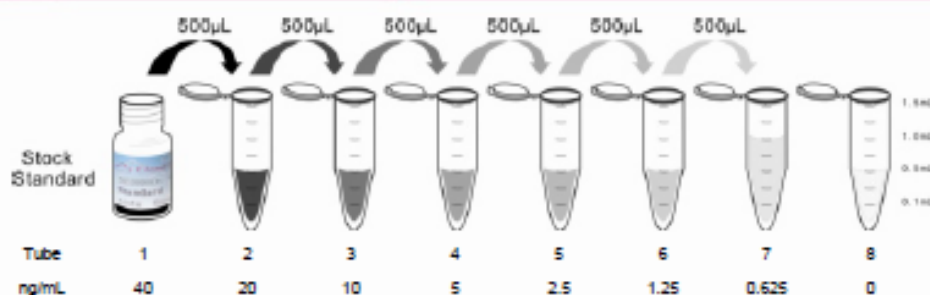
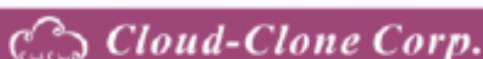
Other biological fluids - Centrifuge samples for 20 minutes at 1,000 $\times$ g. Collect the supernates and assay immediately or store samples in aliquot at -20°C or -80°C for later use. Avoid repeated freeze/thaw cycles.

Note:

1. Samples to be used within 5 days may be stored at 4°C , otherwise samples must be stored at -20°C (≤ 1 month) or -80°C (≤ 2 months) to avoid loss of bioactivity and contamination.
2. Sample hemolysis will influence the result, so hemolytic specimen should not be used.
3. When performing the assay, bring samples to room temperature.

[REAGENT PREPARATION]

1. Bring all kit components and samples to room temperature ($18-25^{\circ}\text{C}$) before use. If the kit will not be used up in one time, please only take out strips and reagents for present experiment, and leave the remaining strips and reagents in required condition.
2. **Standard** - Reconstitute the Standard with 1.0mL of Standard Diluent, kept for 10 minutes at room temperature, shake gently(not to foam). The concentration of the standard in the stock solution is 40ng/mL. Please prepare 7 tubes containing 0.5mL Standard Diluent and produce a double dilution series according to the picture shown below. Mix each tube thoroughly before the next transfer. Set up 7 points of diluted standard such as 40ng/mL, 20ng/mL, 10ng/mL, 5ng/mL, 2.5ng/mL, 1.25ng/mL, 0.625ng/mL, and the last EP tubes with Standard Diluent is the blank as 0ng/mL.



3. **Detection Reagent A and Detection Reagent B** - Briefly spin or centrifuge the stock Detection A and Detection B before use. Dilute them to the working concentration 100-fold with Assay Diluent A and B, respectively.
4. **Wash Solution** - Dilute 20mL of Wash Solution concentrate (30X) with 580mL of deionized or distilled water to prepare 600mL of Wash Solution (1X).
5. **TMB substrate** - Aspirate the needed dosage of the solution with sterilized tips and do not dump the residual solution into the vial again.

Note:

1. Making serial dilution in the wells directly is not permitted.
2. Prepare standards within 15 minutes before assay. Please do not dissolve the reagents at 37°C directly.
3. Please carefully reconstitute Standards or working Detection Reagent A and B according to the instruction, and avoid foaming and mix gently until the crystals are completely dissolved. To minimize Imprecision caused by pipetting, use small volumes and ensure that pipettors are calibrated. It is recommended to suck more than 10µL for one pipetting.
4. The reconstituted Standards, Detection Reagent A and Detection Reagent B can be **used only once**.
5. If crystals have formed in the Wash Solution concentrate (30X), warm to room temperature and mix gently until the crystals are completely dissolved.
6. Contaminated water or container for reagent preparation will influence the detection result.

[SAMPLE PREPARATION]

1. We are only responsible for the kit itself, but not for the samples consumed during the assay. The user should calculate the possible amount of the samples used in the whole test. Please reserve sufficient samples in advance.
2. Please predict the concentration before assaying. If values for these are not within the range of the standard curve, users must determine the optimal sample dilutions for their particular experiments. Sample should be diluted by PBS.
3. If the samples are not indicated in the manual, a preliminary experiment to determine the validity of the kit is necessary.
4. Tissue or cell extraction samples prepared by chemical lysis buffer may cause unexpected ELISA results due to the impacts from certain chemicals.
5. Due to the possibility of mismatching between antigen from other origin and antibody used in our kits (e.g., antibody targets conformational epitope rather than linear epitope), some native or recombinant proteins from other manufacturers may not be recognized by our products.



6. Influenced by the factors including cell viability, cell number or sampling time, samples from cell culture supernates may not be detected by the kit.
7. Fresh samples without long time storage is recommended for the test. Otherwise, protein degradation and denaturalization may occur in those samples and finally lead to wrong results.

[ASSAY PROCEDURE]

1. Determine wells for diluted standard, blank and sample. Prepare 7 wells for standard, 1 well for blank. Add 100µL each of dilutions of standard (read Reagent Preparation), blank and samples into the appropriate wells. Cover with the Plate sealer. Incubate for 1 hour at 37°C.
2. Remove the liquid of each well, don't wash.
3. Add 100µL of **Detection Reagent A** working solution to each well, cover the wells with the plate sealer and incubate for 1 hour at 37°C.
4. Aspirate the solution and wash with 350µL of 1X Wash Solution to each well using a squirt bottle, multi-channel pipette, manifold dispenser or autowasher, and let it sit for 1~2 minutes. Remove the remaining liquid from all wells completely by snapping the plate onto absorbent paper. Totally wash 3 times. After the last wash, remove any remaining Wash Buffer by aspirating or decanting. Invert the plate and blot it against absorbent paper.
5. Add 100µL of **Detection Reagent B** working solution to each well, cover the wells with the plate sealer and incubate for 30 minutes at 37°C.
6. Repeat the aspiration/wash process for total 5 times as conducted in step 4.
7. Add 90µL of **Substrate Solution** to each well. Cover with a new Plate sealer. Incubate for 10 - 20 minutes at 37°C (Don't exceed 30 minutes). Protect from light. The liquid will turn blue by the addition of Substrate Solution.
8. Add 50µL of **Stop Solution** to each well. The liquid will turn yellow by the addition of Stop solution. Mix the liquid by tapping the side of the plate. If color change does not appear uniform, gently tap the plate to ensure thorough mixing.
9. Remove any drop of water and fingerprint on the bottom of the plate and confirm there is no bubble on the surface of the liquid. Then, run the microplate reader and conduct measurement at 450nm immediately.

Note:

1. **Assay preparation:** Keep appropriate numbers of wells for each experiment and remove extra wells from microplate. Rest wells should be resealed and stored at -20°C.
2. **Samples or reagents addition:** Please use the freshly prepared Standard. Please carefully add samples to wells and mix gently to avoid foaming. Do not touch the well wall. For each step in the procedure, total dispensing time for addition of reagents or samples to the assay plate should not exceed 10 minutes. This will ensure equal elapsed time for each pipetting step, without interruption. Duplication of all standards and specimens, although not required, is recommended. To avoid cross-contamination, change pipette tips between additions of standards, samples, and reagents. Also, use separated reservoirs for each reagent.
3. **Incubation:** To ensure accurate results, proper adhesion of plate sealers during incubation steps is necessary. Do not allow wells to sit uncovered for extended periods between incubation steps. Once reagents are added to the well strips, DO NOT let the strips DRY at any time during the assay. Incubation time and temperature must be controlled.



4. **Washing:** The wash procedure is critical. Complete removal of liquid at each step is essential for good performance. After the last wash, remove any remaining Wash Solution by aspirating or decanting and remove any drop of water and fingerprint on the bottom of the plate. Insufficient washing will result in poor precision and false elevated absorbance reading.
5. **Controlling of reaction time:** Observe the change of color after adding TMB Substrate (e.g. observation once every 10 minutes), if the color is too deep, add Stop Solution in advance to avoid excessively strong reaction which will result in inaccurate absorbance reading.
6. **TMB Substrate** is easily contaminated. Please protect it from light.
7. The environment humidity which is less than 60% might have some effects on the final performance, therefore, a humidifier is recommended to be used at that condition.

[TEST PRINCIPLE]

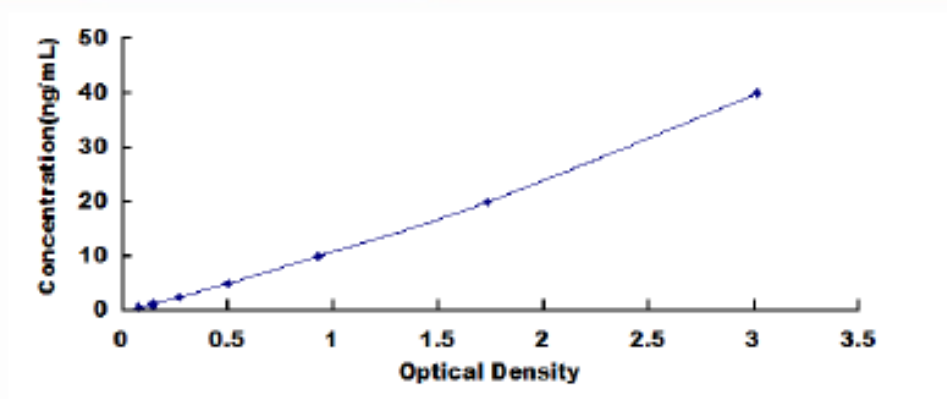
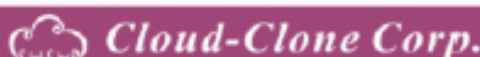
The microplate provided in this kit has been pre-coated with an antibody specific to uromodulin. Standards or samples are then added to the appropriate microplate wells with a biotin-conjugated antibody specific to uromodulin. Next, Avidin conjugated to Horseradish Peroxidase (HRP) is added to each microplate well and incubated. After TMB substrate solution is added, only those wells that contain uromodulin, biotin-conjugated antibody and enzyme-conjugated Avidin will exhibit a change in color. The enzyme-substrate reaction is terminated by the addition of sulphuric acid solution and the color change is measured spectrophotometrically at a wavelength of 450nm $\pm$ 10nm. The concentration of uromodulin in the samples is then determined by comparing the O.D. of the samples to the standard curve.

[CALCULATION OF RESULTS]

Average the duplicate readings for each standard, control, and samples and subtract the average zero standard optical density. Create a standard curve with uromodulin concentration on the y-axis and absorbance on the x-axis. Draw a best fit curve through the points and it can be determined by regression analysis. If samples have been diluted, the concentration read from the standard curve must be multiplied by the dilution factor.

[TYPICAL DATA]

In order to make the calculation easier, we plot the O.D. value of the standard (X-axis) against the known concentration of the standard (Y-axis), although concentration is the independent variable and O.D. value is the dependent variable. However, the O.D. values of the standard curve may vary according to the conditions of assay performance (e.g. operator, pipetting technique, washing technique or temperature effects), plotting log of the data to establish standard curve for each test is recommended. Typical standard curve below is provided for reference only.



Typical Standard Curve for Uromodulin, Human ELISA.

[DETECTION RANGE]

0.625-40ng/mL. The standard curve concentrations used for the ELISA's were 40ng/mL, 20ng/mL, 10ng/mL, 5ng/mL, 2.5ng/mL, 1.25ng/mL, 0.625ng/mL.

[SENSITIVITY]

The minimum detectable dose of uromodulin is typically less than 0.253ng/mL.

The sensitivity of this assay, or Lower Limit of Detection (LLD) was defined as the lowest protein concentration that could be differentiated from zero. It was determined by adding two standard deviations to the mean optical density value of twenty zero standard replicates and calculating the corresponding concentration.

[SPECIFICITY]

This assay has high sensitivity and excellent specificity for detection of uromodulin.

No significant cross-reactivity or Interference between uromodulin and analogues was observed.

Note:

Limited by current skills and knowledge, it is impossible for us to complete the cross- reactivity detection between uromodulin and all the analogues, therefore, cross reaction may still exist.

[PRECISION]

Intra-assay Precision (Precision within an assay): 3 samples with low, middle and high level uromodulin were tested 20 times on one plate, respectively.

Inter-assay Precision (Precision between assays): 3 samples with low, middle and high level uromodulin were tested on 3 different plates, 8 replicates in each plate.

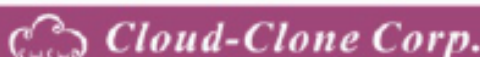
$CV(\%) = SD/mean \times 100$

Intra-Assay: CV<10%

Inter-Assay: CV<12%

[STABILITY]

The stability of ELISA kit is determined by the loss rate of activity. The loss rate of this kit is less than 5% prior to



the expiration date under appropriate storage condition.

To minimize extra influence on the performance, operation procedures and lab conditions, especially room temperature, air humidity, incubator temperature should be strictly monitored. It is also strongly suggested that the assay is performed by the same operator from the beginning to the end.

[ASSAY PROCEDURE SUMMARY]

1. Prepare all reagents, samples and standards;
2. Add 100 μ L standard or sample to each well. Incubate 1 hour at 37°C;
3. Aspirate and add 100 μ L prepared Detection Reagent A. Incubate 1 hour at 37°C;
4. Aspirate and wash 3 times;
5. Add 100 μ L prepared Detection Reagent B. Incubate 30 minutes at 37°C;
6. Aspirate and wash 5 times;
7. Add 90 μ L Substrate Solution. Incubate 10-20 minutes at 37°C;
8. Add 50 μ L Stop Solution. Read at 450nm immediately.

[IMPORTANT NOTE]

1. Limited by the current conditions and scientific technology, we can't completely conduct the comprehensive identification and analysis on the raw material provided by suppliers. So there might be some qualitative and technical risks to use the kit.
2. The final experimental results will be closely related to validity of the products, so the kit should be used prior to the expiration date. And please store the kits exactly according to the instruction.
3. Kits from different batches may be a little different in detection range, sensitivity and color developing time. Please perform the experiment exactly according to the instruction attached in kit while electronic ones from our website is only for reference.
4. Do not mix or substitute reagents from one kit lot to another. Use only the reagents supplied by manufacturer.
5. Protect all reagents from strong light during storage and incubation. All the bottle caps of reagents should be covered tightly to prevent the evaporation and contamination of microorganism. TMB Substrate should remain colorless till it is reacted with the enzyme which binds to the microplate.
6. There may be some foggy substance in the wells when the plate is opened at the first time. It will not have any effect on the final assay results. Do not remove microplate from the storage bag until needed.
7. Wrong operations during the reagents preparation and loading, as well as incorrect parameter setting for the plate reader may lead to incorrect results. A microplate reader with a bandwidth of 10nm or less and an optical density range of 0-3 O.D. at 450 $\pm$ 10nm wavelength is acceptable for use in absorbance measurement. Please read the instruction carefully and adjust the instrument prior to the experiment.
8. Variation in sample preparation and each step of experimental operation may cause different results. In order to get better reproducible results, the operation of each step in the assay should be controlled.
9. Each kit has been strictly passed Q.C test. However, results from end users might be inconsistent with our in-house data due to some unexpected transportation conditions or different lab equipments. Intra-assay variance among kits from different batches might arise from above factors, too.
10. Kits from different manufacturers with the same item might produce different results, since we haven't compared our products with other manufacturers.



11. The standard of the kit and Immunogen used for antibody preparation are commonly recombinant proteins, as different fragments, expression systems, purification methods might be used in recombinant protein preparation, we can not guarantee the kit could detect recombinant protein from other companies. So, it is not recommended to use the kit for the detection of recombinant protein.
12. Please predict the concentration of target molecules in samples, or arrange a preliminary experiment, it is a good way to solve specific problem, e.g. the concentration of samples are beyond the detection range of the kit.
13. The kit might not be suitable for detection of samples from some special experiment, for instance, knock-out experiments, due to their uncertainty of effectiveness.
14. The instruction manual is also for the kit of 48T, but all reagents of 48T kit are reduced by half.
15. The kit is designed for research use only, we will not be responsible for any issue if the kit was used in clinical diagnostic or any other procedures.

[PRECAUTION]

The Stop Solution suggested for use with this kit is an acid solution. Wear eye, hand, face, and clothing protection when using this material.

[TROUBLE SHOOTING]

Problem	Possible Source	Correction Action
Poor Standard Curve	Improper standard curve preparation	Ensure accurate operation of the dilution
	Incomplete washing and aspiration	Adequate washing and adequate aspiration
	Inaccurate Pipetting	Check and Calibrate pipettes
Poor Precision	Incomplete washing of wells	Ensure sufficient washing
	Inadequate mixing and aspiration reagents	Adequate aspiration and mixing reagents
	Reused pipette tips, containers and sealers	Change and use new pipette tips, containers and sealers
	Inaccurate Pipetting	Check and Calibrate pipettes
Low O.D Values	Inadequate reagent volumes added to wells	Calibrate pipettes and Add adequate reagents
	Incorrect incubation times	Ensure sufficient incubation times
	Incorrect incubation temperature	Reagents balanced to room temperature
	Conjugate or substrate reagent failure	Mix conjugate & substrate, color should develop immediately
	No stop solution added	Follow the assay protocol in the kit manual
	Read beyond suggested reading time	Read within the time recommended in the manual
Sample Values	Improper Sample Storage	Store the sample properly and use the fresh sample
	Improper sample collection and preparation	Take proper sample collection and preparation method
	Low quantity of analyte in samples	Use new sample and repeat assay

EK-4:**Tablo EK-4.1.** Orta güçlü korelasyon analizleri

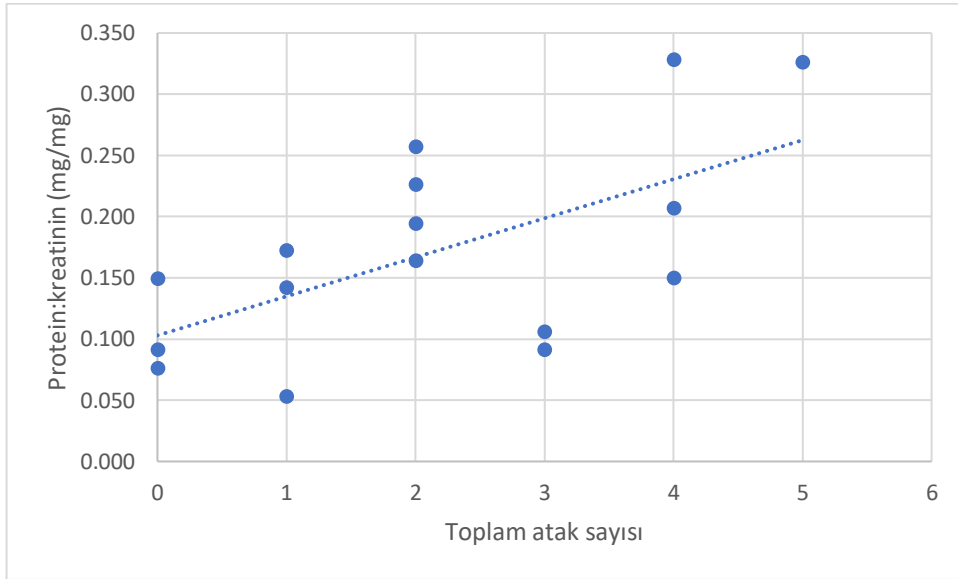
		Korelasyon katsayısı	P değeri
Serum kreatinin	Tanı sonrası atak sayısı	-0,525 ^p	0,037
	Toplam atak sayısı	-0,500 ^p	0,048
	Tanıda karnitin düzeyi	-0,517 ^p	0,048
	Yapay protein alımı	-0,522 ^p	0,038
	Serum klor	-0,560 ^p	0,024
	Serum ürik asit	0,499 ^p	0,049
	ALP	-0,559 ^p	0,025
	GGT	0,025 ^p	0,029
	BUN	0,547 ^p	0,028
	Spot idrar protein:kreatinin	-0,517 ^p	0,040
	Spot idrar B2MG	-0,521 ^p	0,038
	NGAL:kreatinin	-0,558 ^p	0,025
	Sağ renal ven akım hızı	0,585 ^p	0,017
Serum BUN	Toplam atak sayısı	-0,528 ^r	0,036
	NGAL:kreatinin	-0,593 ^p	0,015
Serum sistatin C	Sol renal ven akım hızı	-0,521 ^p	0,047
Spot idrar protein:kreatinin	Tanı sonrası atak sayısı	0,513 ^p	0,042
	Yapay protein alımı	0,597 ^p	0,015
	Serum ürik asit	-0,506 ^p	0,046
	B2MG:Kreatinin	0,586 ^p	0,017
	İdrarda glutarik asit atılımı	-0,574 ^p	0,020
	İdrarda 3-OH glutarik asit atılımı	-0,506 ^p	0,045
Spot idrar albümin:kreatinin	Tanıda karnitin düzeyi	0,575 ^p	0,025
	Spot idrar potasyum	0,558 ^p	0,025
	NGAL	0,506 ^p	0,045
	NGAL:kreatinin	0,579 ^p	0,019
	Sol ilyak arter Resistive Index	0,568 ^p	0,022
	Sol ilyak arter Pulsatility Index	0,560 ^p	0,024

Tablo EK-4.1. Orta güçlü korelasyon analizleri, devam

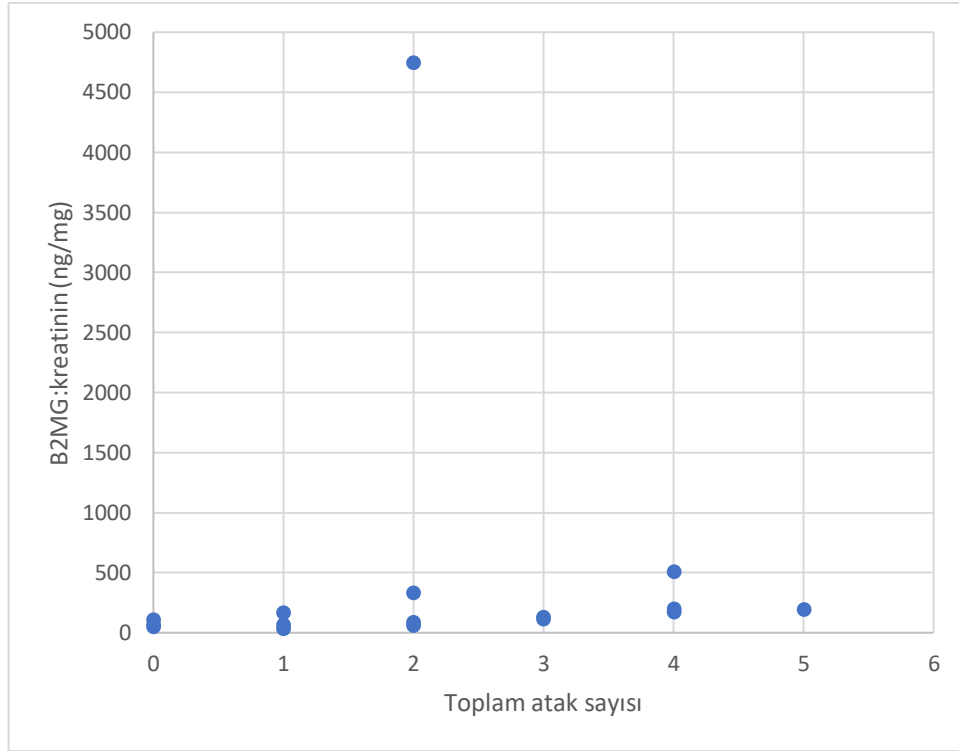
		Korelasyon katsayısı	P değeri
Spot idrar B2MG:kreatinin	Tanı yaşı	-0,518 ^p	0,040
	Serum albümin	-0,525 ^p	0,037
	ALP	0,555 ^p	0,026
	Bikarbonat	-0,515 ^p	0,041
	Spot idrar kalsiyum:kreatinin	0,503 ^p	0,047
	İdrarda 3OH glutarik asit atılımı	-0,567 ^p	0,022
KIM1:kreatinin	UMOD	0,506 ^p	0,046
NGAL:kreatinin	Toplam protein alımı	0,518 ^p	0,040
	Serum potasyum	0,576 ^p	0,020
	GGT	-0,504 ^p	0,046
	Sağ renal arter akım hızı	-0,539 ^p	0,038
UMOD:kreatinin	Tanı yaşı	-,526 ^p	0,036
	Yapay protein alımı	,584 ^p	0,018
	Serum albümin	-,505 ^p	0,046
	Bikarbonat	-,576 ^p	0,019

^p Spearman korelasyon katsayısı, ^r Pearson korelasyon katsayısı, ALP: Alkalen fosfataz, B2MG: Beta-2 mikroglobulin, BUN: Kan üre azotu, GGT: Gamaglutamil transferaz, KIM-1: *Kidney Injury Molecule-1*, NGAL: *Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin*, UMOD: Uromodulin

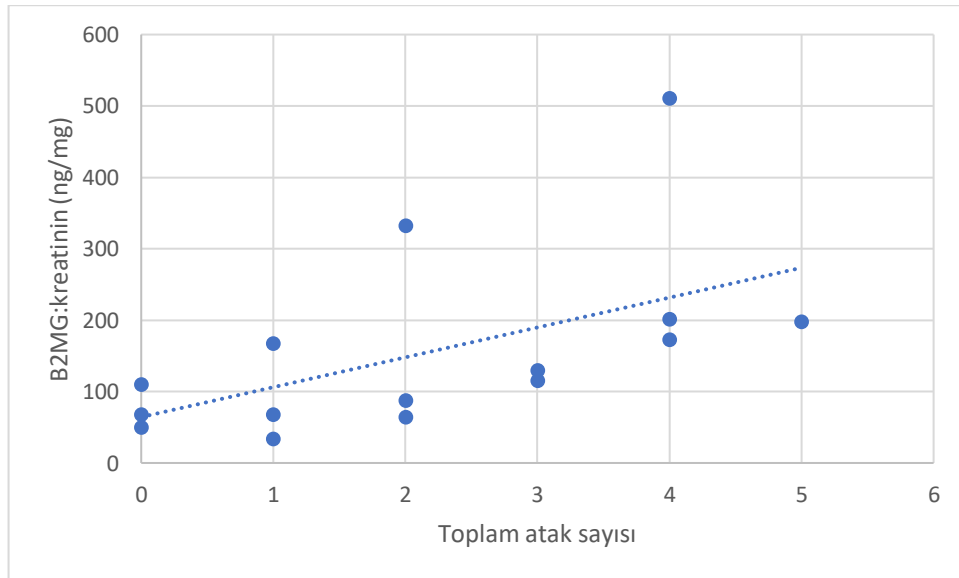
EK-5: Güçlü Korelasyon Analizlerinin Grafikleri



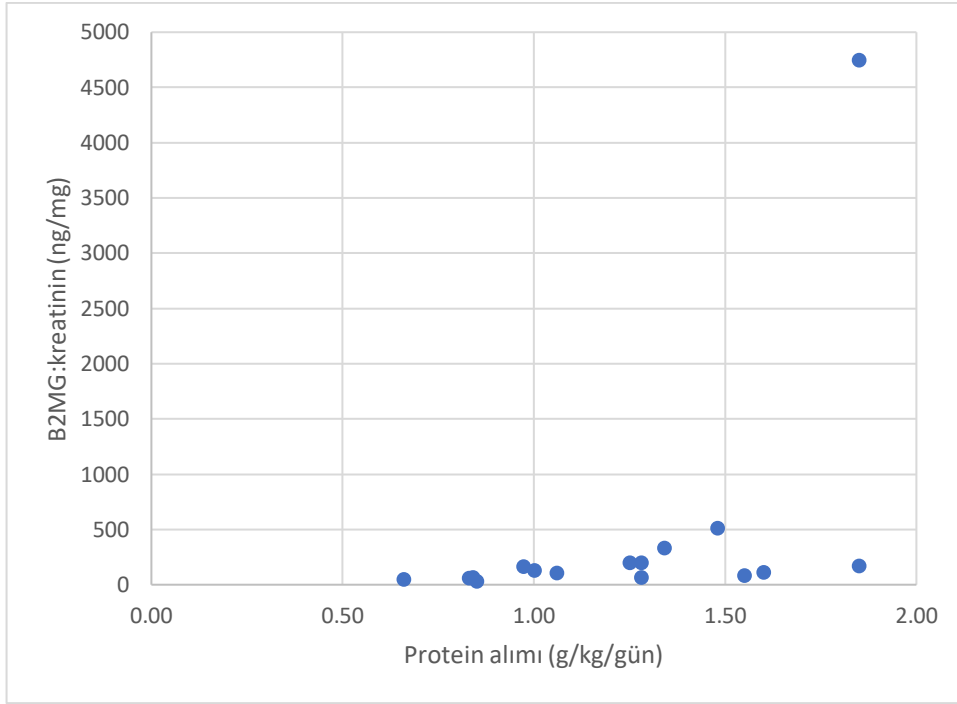
Şekil EK-5.1. Toplam akut ensefalopatik atak sayısı ve spot idrar protein:kreatinin oranları



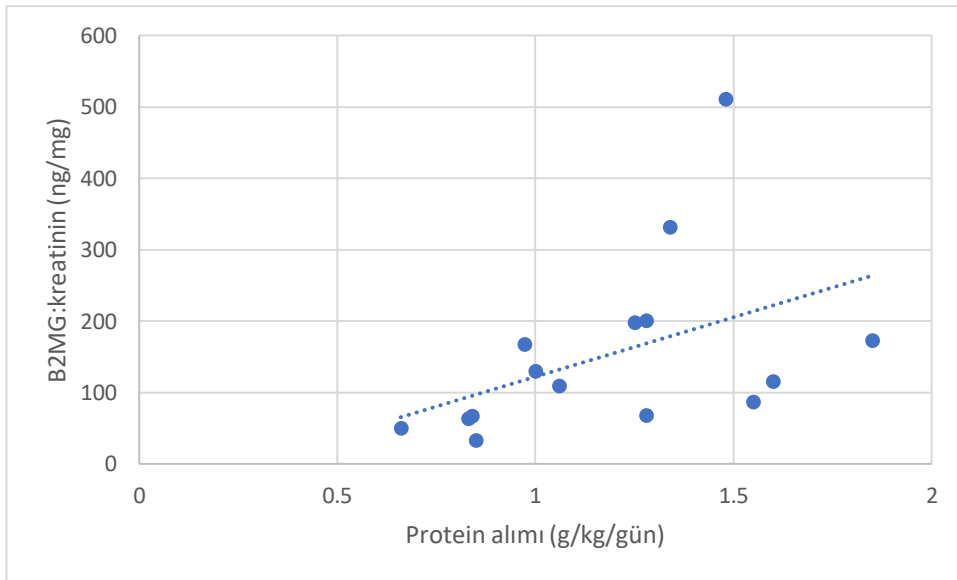
Şekil EK-5.2a. Toplam akut ensefalopatik atak sayısı ve spot idrar B2MG:kreatinin oranları



Şekil EK-5.2b. Toplam akut ensefalopatik atak sayısı ve spot idrar B2MG:kreatinin oranları. Ekstrem değeri olan 1 hasta dışarıda bırakılarak eğilim çizgisi çizilmiştir.

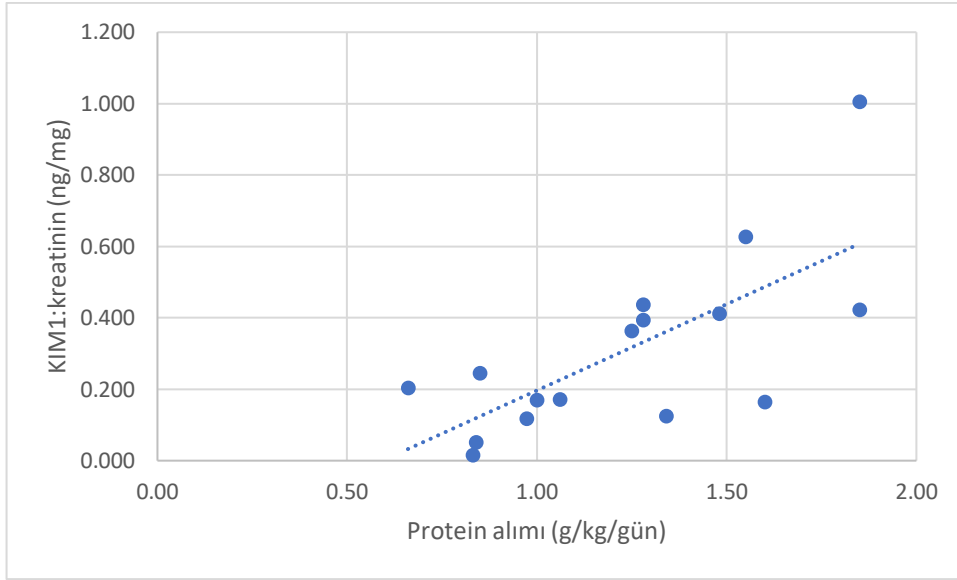


Şekil EK-5.3a. Günlük toplam protein alımları ve spot idrar B2MG:kreatinin oranları.

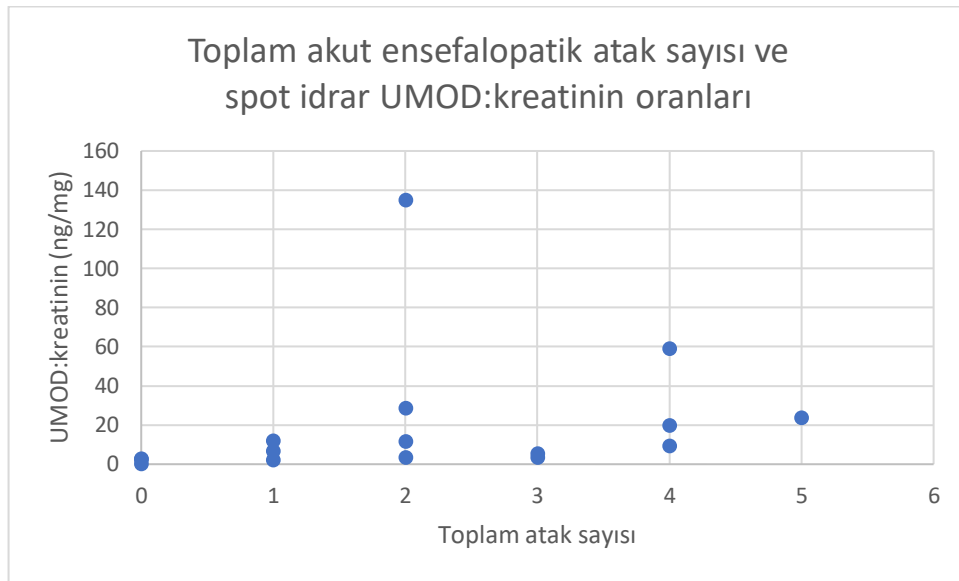


Şekil EK-5.3b. Günlük toplam protein alımları ve spot idrar B2MG:kreatinin oranları.

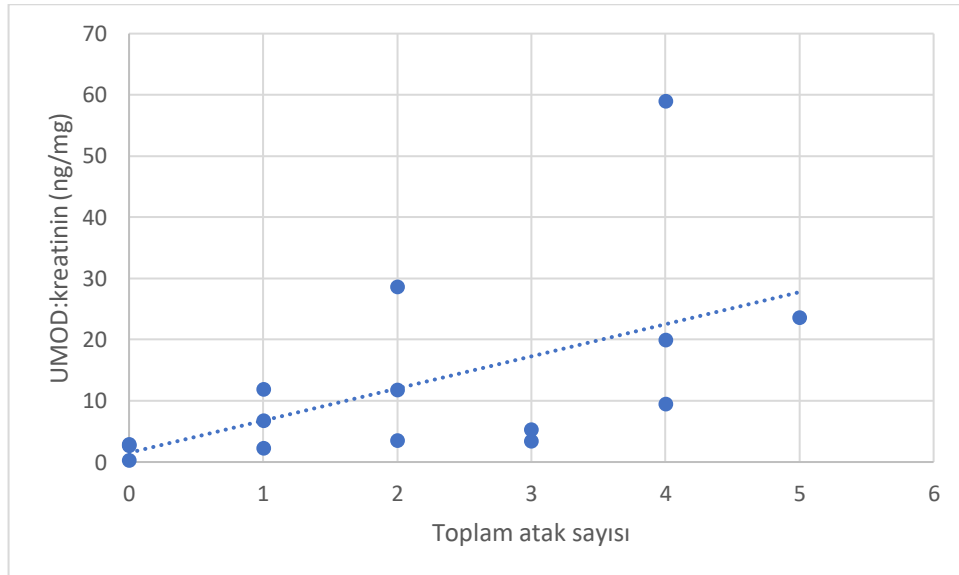
Ekstrem değeri olan 1 hasta dışarıda bırakılarak eğilim çizgisi çizilmiştir.



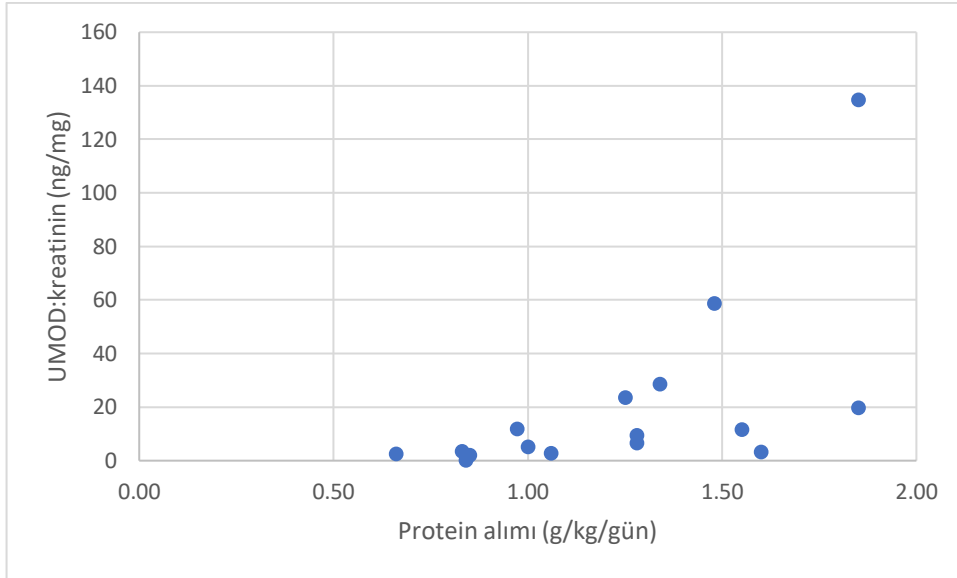
Şekil EK-5.4. Günlük toplam protein alımları ve spot idrar KIM1:kreatinin oranları.



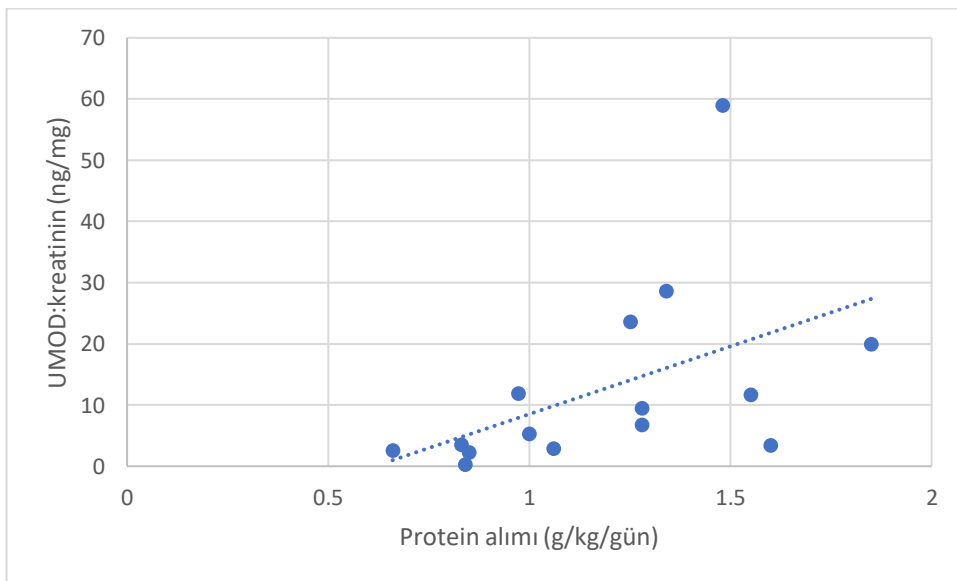
Şekil EK-5.5a. Toplam akut ensefalopatik atak sayısı ve spot idrar UMOD:kreatinin oranları



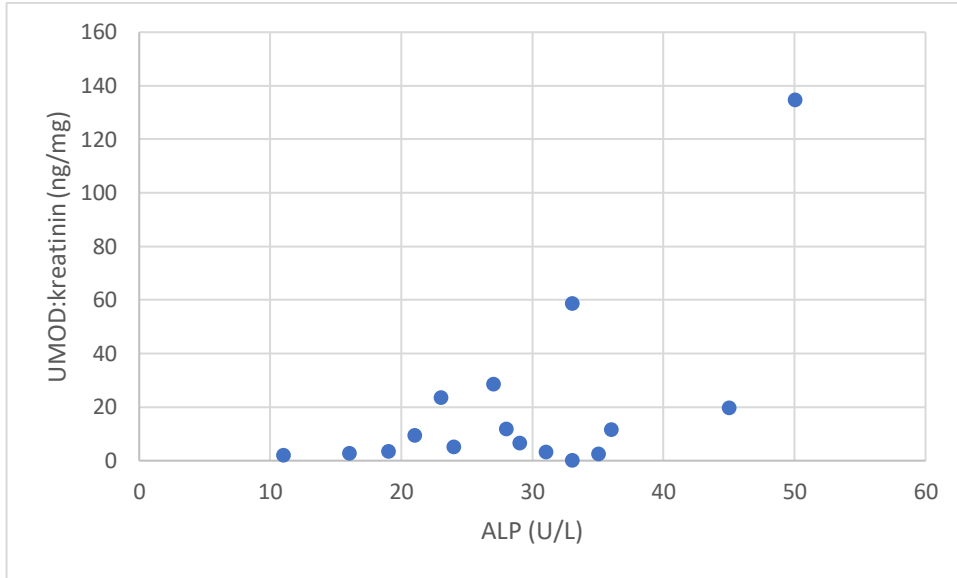
Şekil EK-5.5b. Toplam akut ensefalopatik atak sayısı ve spot idrar UMOD:kreatinin oranları. Ekstrem değeri olan 1 hasta dışarıda bırakılarak eğilim çizgisi çizilmiştir.



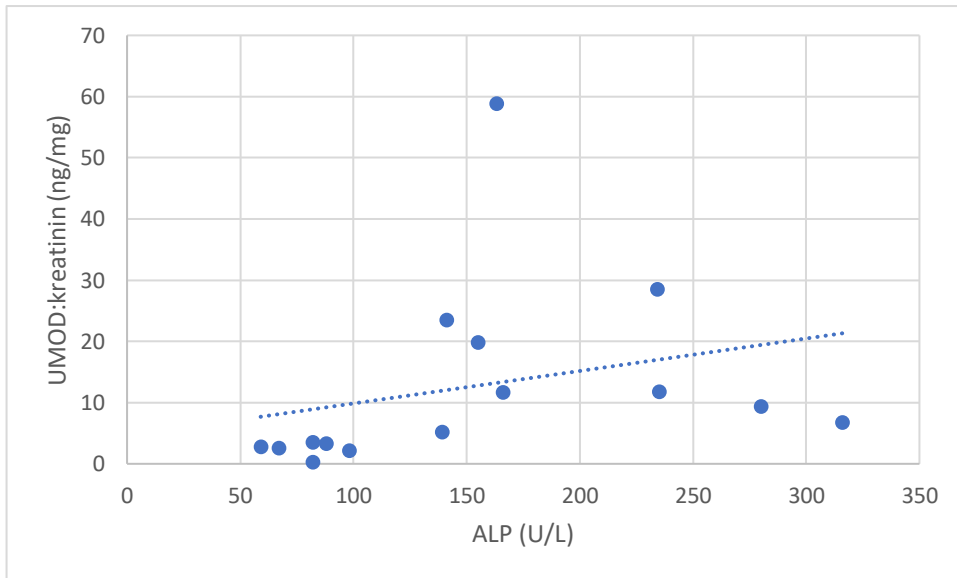
Şekil EK-5.6a.Günlük toplam protein alımları ve spot idrar UMOD:kreatinin oranları



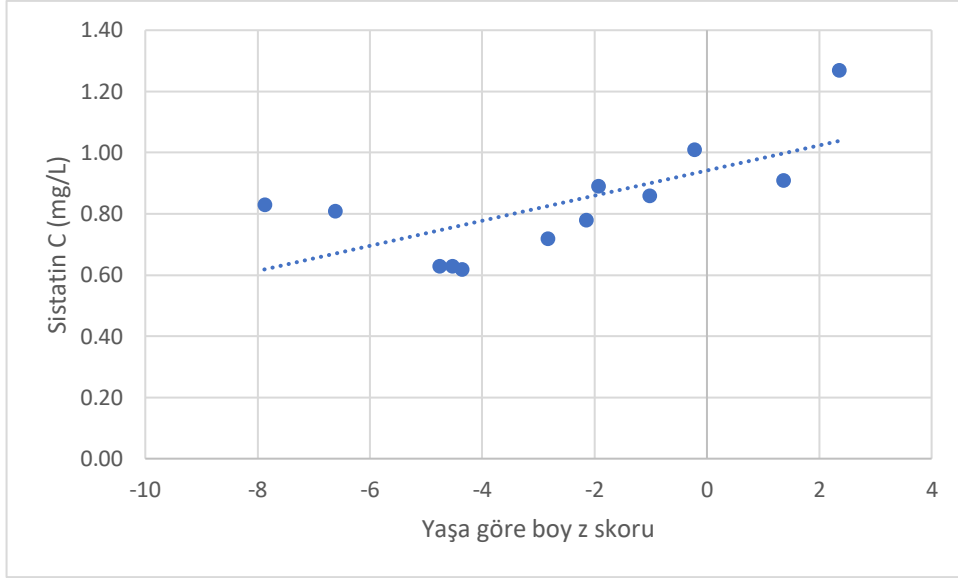
Şekil EK-5.6b.Günlük toplam protein alımları ve spot idrar UMOD:kreatinin oranları. Ekstrem değeri olan 1 hasta dışarıda bırakılarak eğilim çizgisi çizilmiştir.



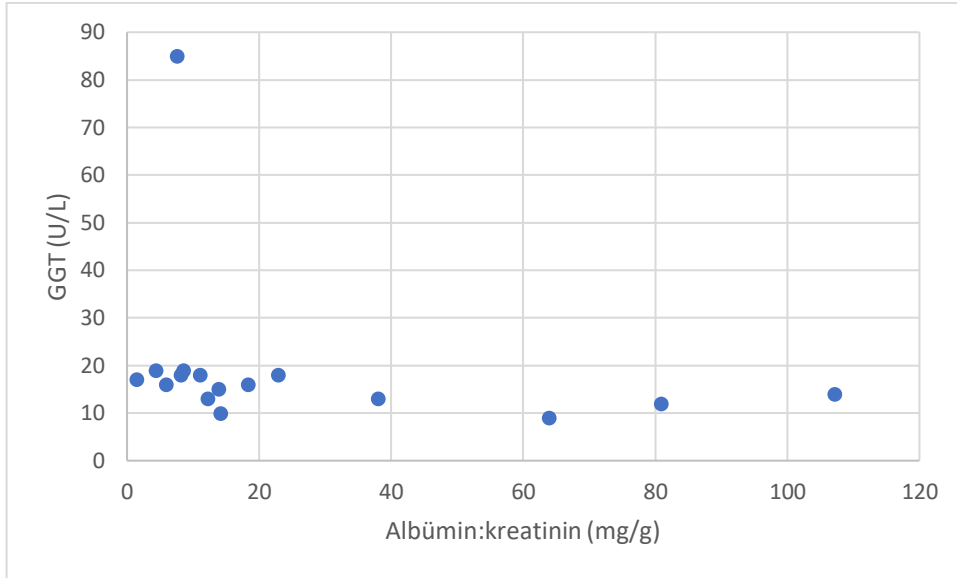
Şekil EK-5.7a. Serum ALP düzeyleri ve spot idrar UMOD:kreatinin oranları



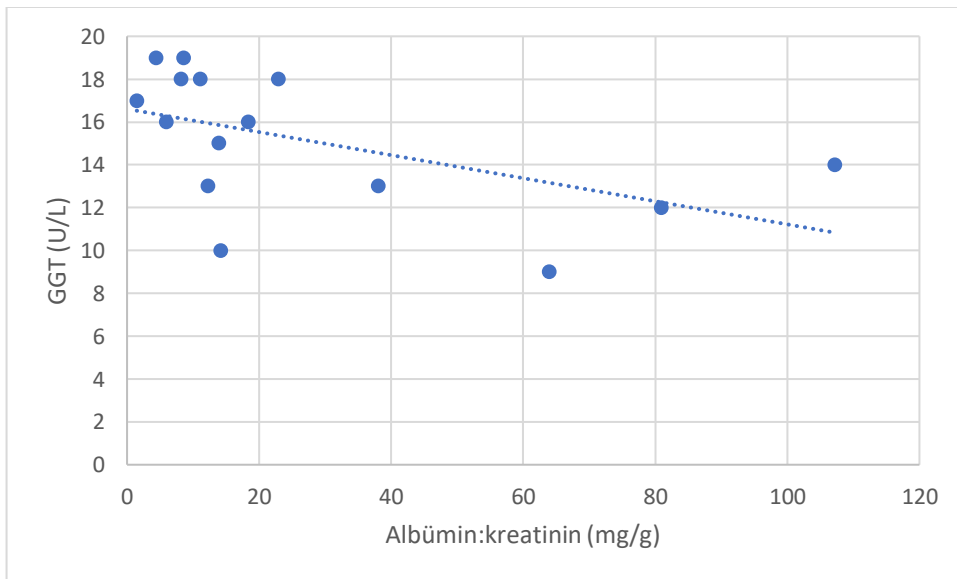
Şekil EK-5.7b. Serum ALP düzeyleri ve spot idrar UMOD:kreatinin oranları. Ekstrem değeri olan 1 hasta dışarıda bırakılarak eğilim çizgisi çizilmiştir.



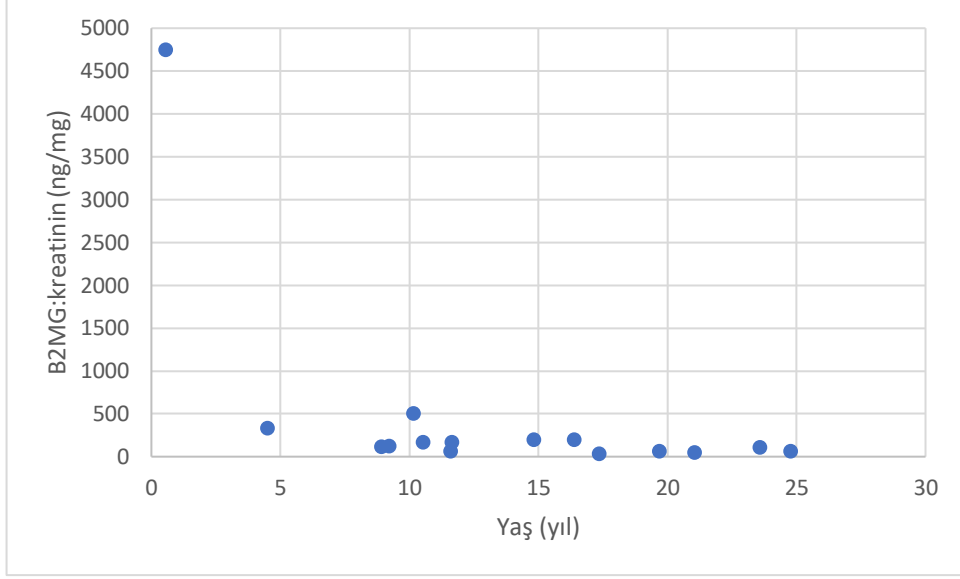
Şekil EK-5.8. Yaşa göre boy z skoru ve sistatin C düzeyleri



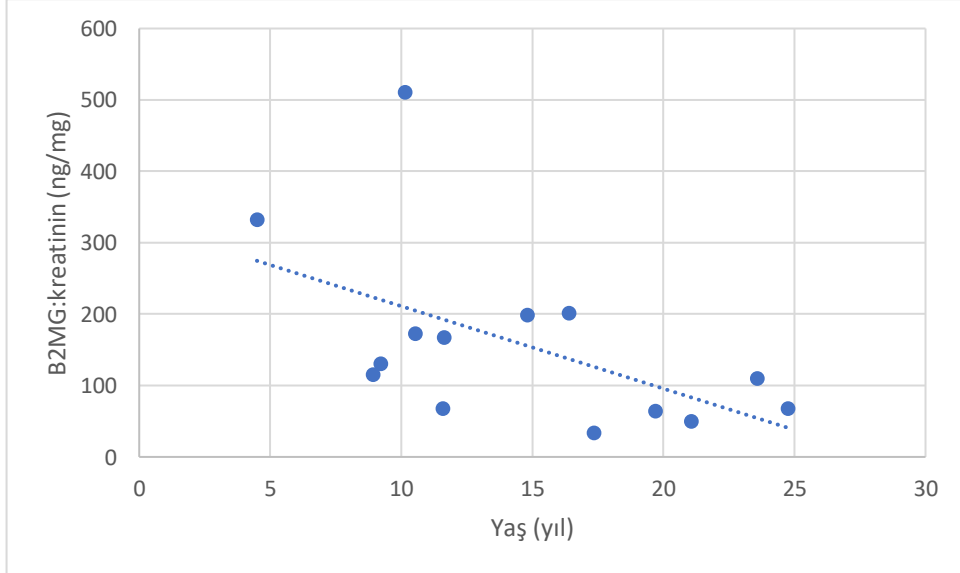
Şekil EK-5.9a.Spot idrar albümin:kreatinin ve GGT düzeyleri



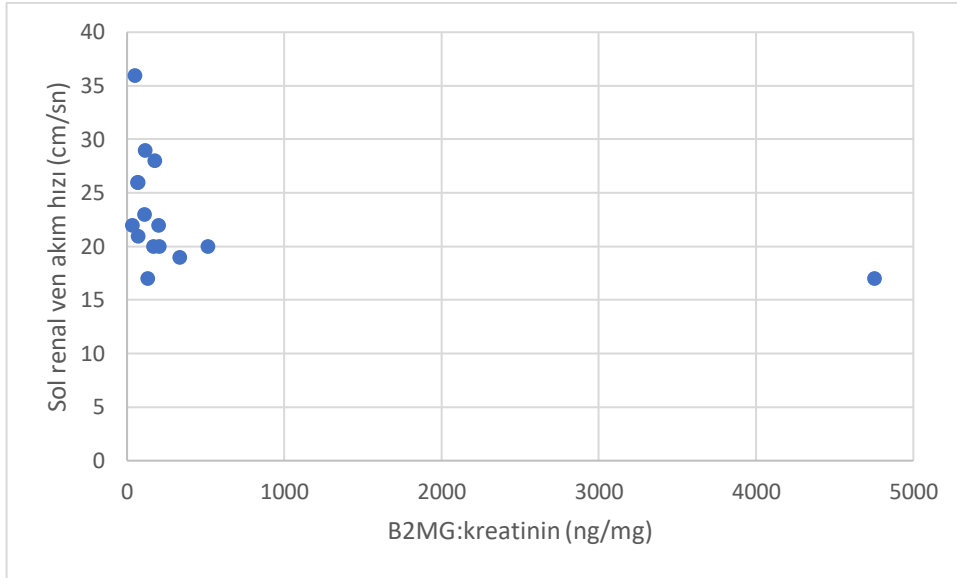
Şekil EK-5.9b.Spot idrar albümin:kreatinin ve GGT düzeyleri. Ekstrem değeri olan 1 hasta dışarıda bırakılarak eğilim çizgisi çizilmiştir.



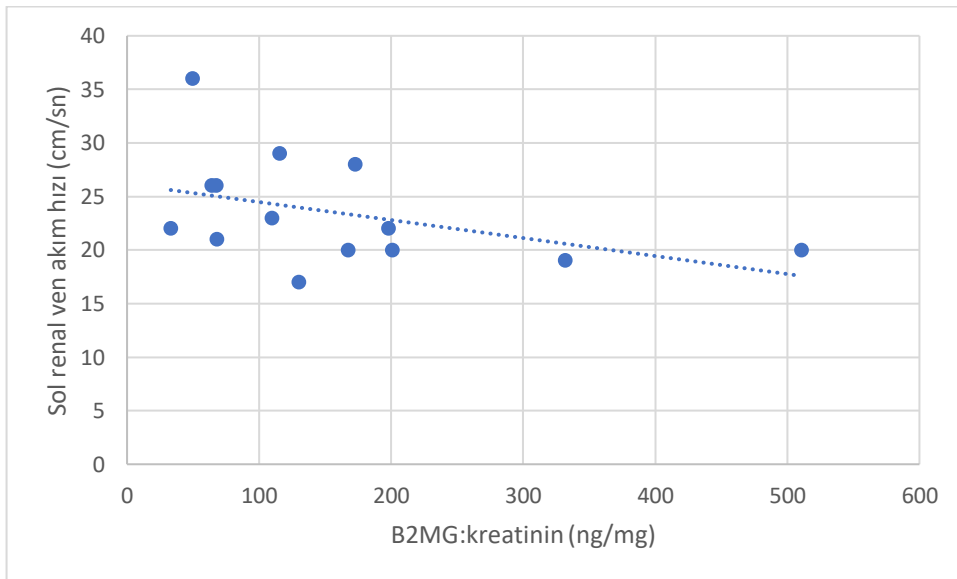
Şekil EK-5.10a. Başvuru sırasındaki yaşlar ve spot idrar B2MG:kreatinin oranları



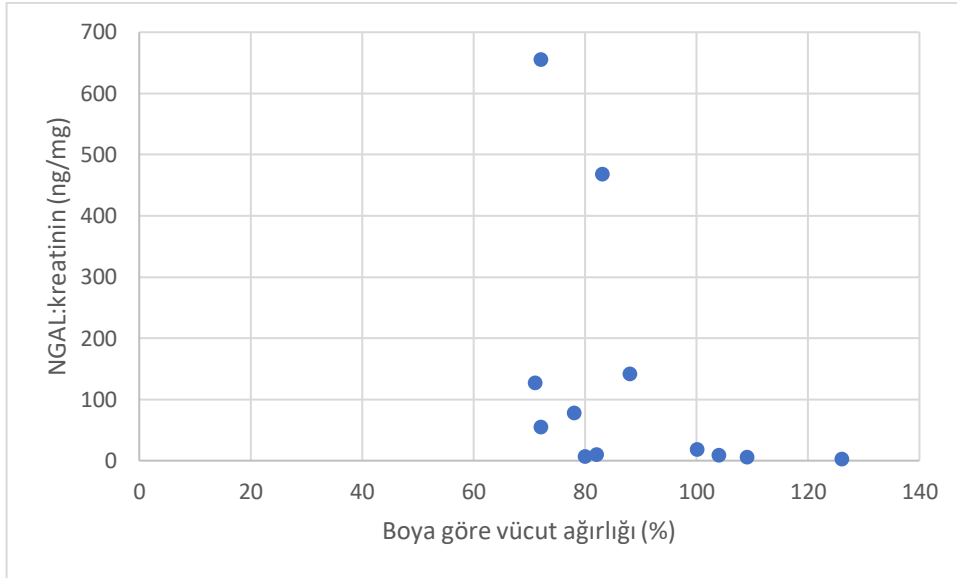
Şekil EK-5.10b. Başvuru sırasındaki yaşlar ve spot idrar B2MG:kreatinin oranları. Ekstrem değeri olan hasta 1 dışarıda bırakılarak eğilim çizgisi çizilmiştir.



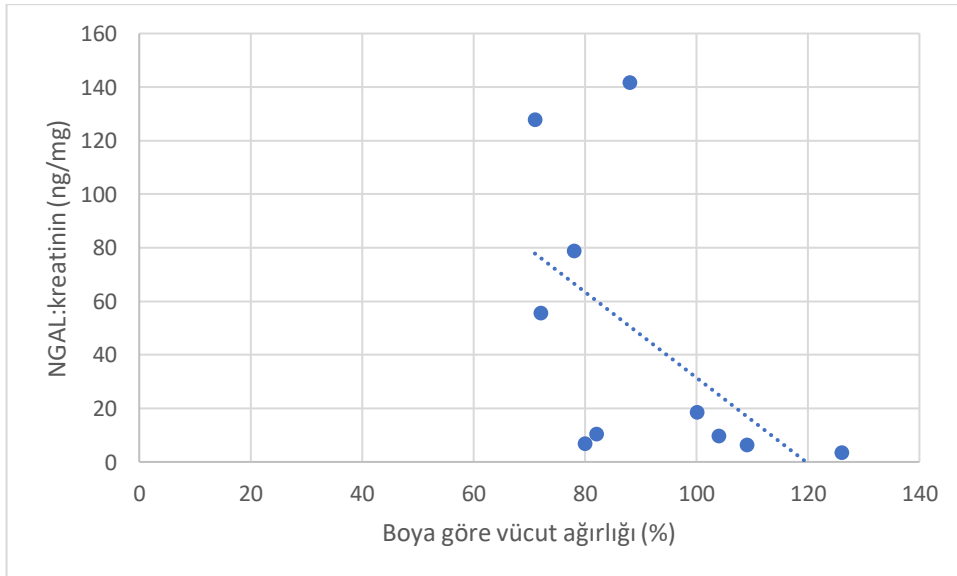
Şekil EK-5.11a. Spot idrar B2MG:kreatinin oranları ve sol renal ven akım hızları



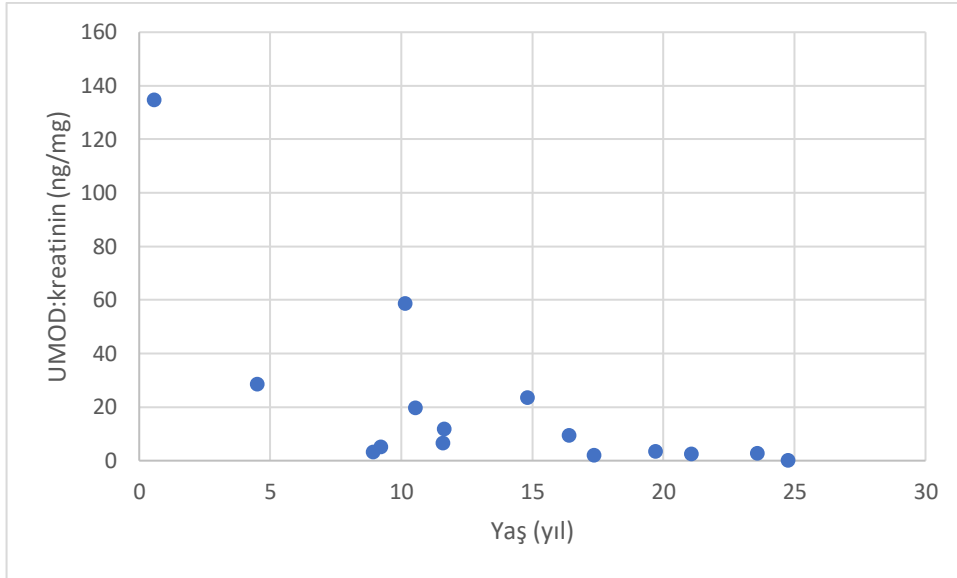
Şekil EK-5.11b. Spot idrar B2MG:kreatinin oranları ve sol renal ven akım hızları. Ekstrem değeri olan 1 hasta dışarıda bırakılarak eğilim çizgisi çizilmiştir.



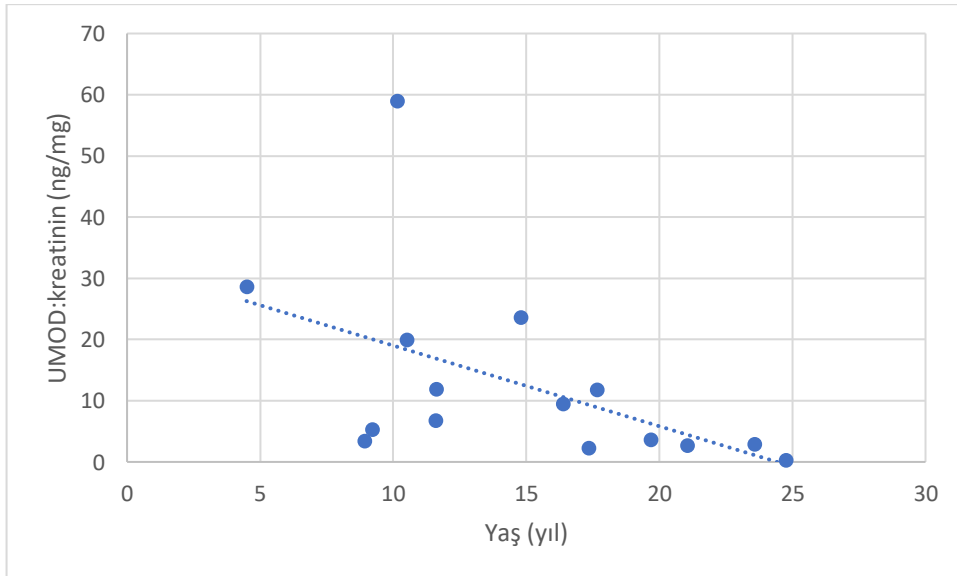
Şekil EK-5.12a. Boya göre vücut ağırlıkları ve spot idrar NGAL:kreatinin oranları



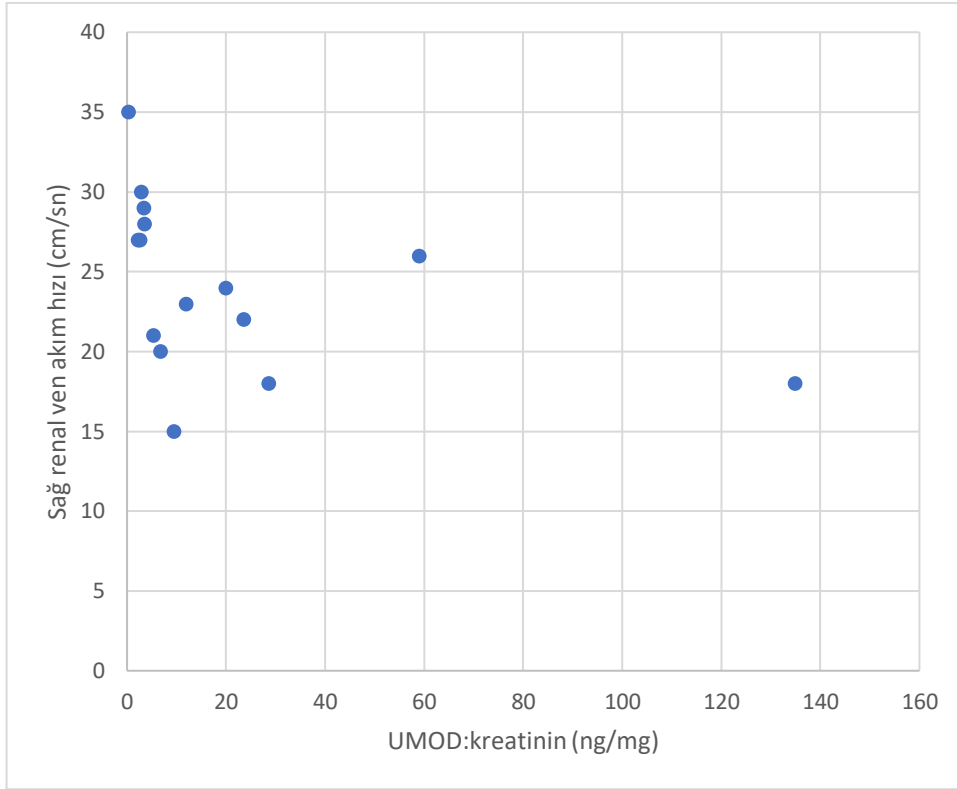
Şekil EK-5.12b. Boya göre vücut ağırlıkları ve spot idrar NGAL:kreatinin oranları. Ekstrem değeri olan 2 hasta dışarıda bırakılarak eğilim çizgisi çizilmiştir.



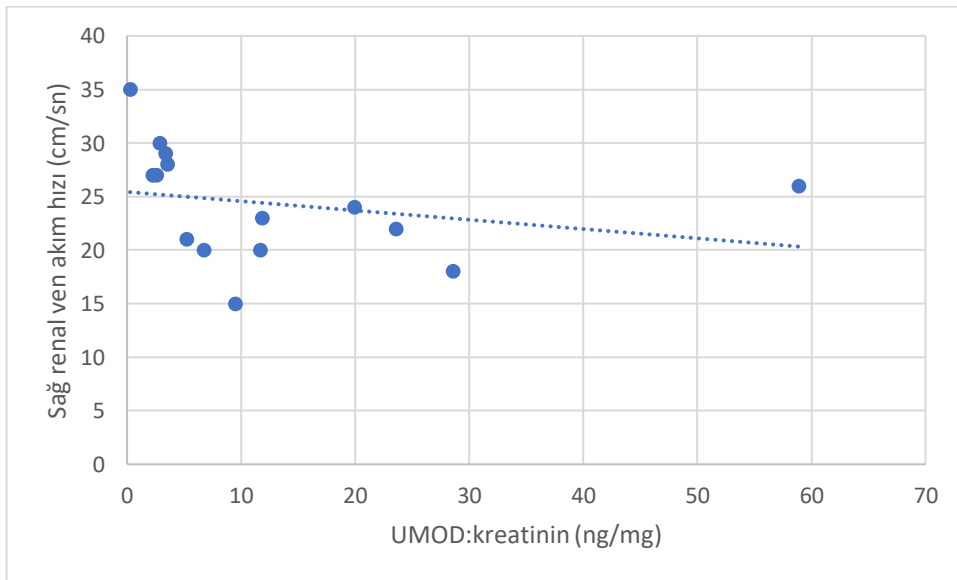
Şekil EK-5.13a. Başvuru yaşları ve spot idrar UMOD:kreatinin oranları



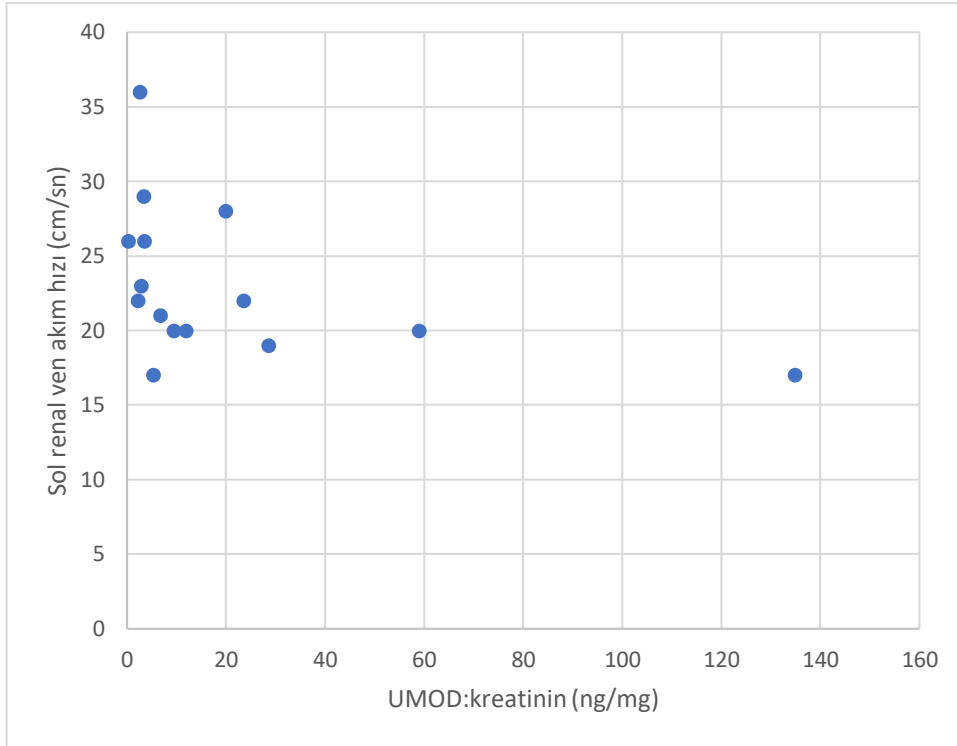
Şekil EK-5.13b. Başvuru yaşları ve spot idrar UMOD:kreatinin oranları. Ekstrem değeri olan 1 hasta dışarıda bırakılarak eğilim çizgisi çizilmiştir.



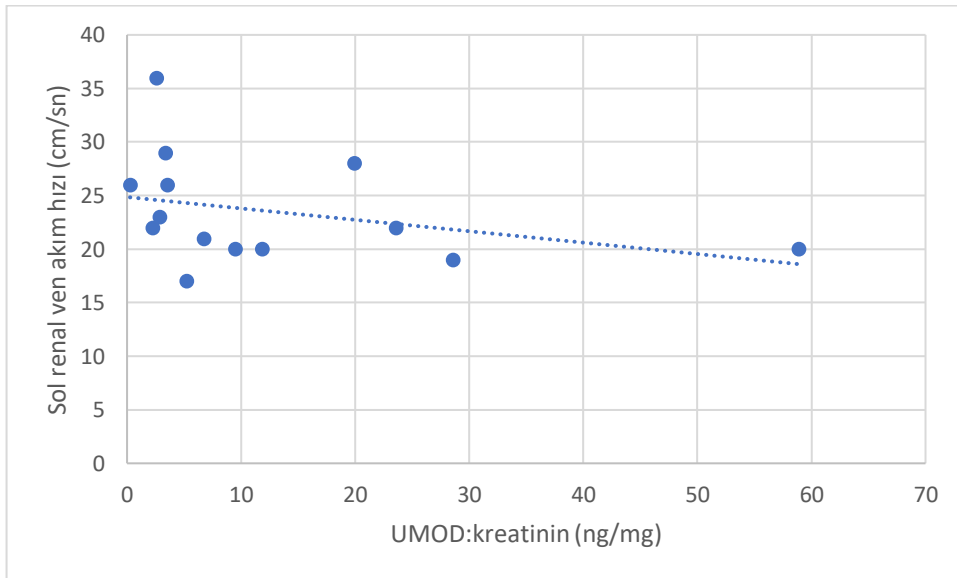
Şekil EK-5.14a. Spot idrar UMOD:kreatinin oranları ve sağ renal ven akım hızları



Şekil EK-5.14b. Spot idrar UMOD:kreatinin oranları ve sağ renal ven akım hızları. Ekstrem değeri olan 1 hasta dışarıda bırakılarak eğilim çizgisi çizilmiştir.



Şekil EK-5.15a. Spot idrar UMOD:kreatinin oranları ve sol renal ven akım hızları



Şekil EK-5.15b. Spot idrar UMOD:kreatinin oranları ve sol renal ven akım hızları. Ekstrem değeri olan 1 hasta dışarıda bırakılarak eğilim çizgisi çizilmiştir.

EK-6: Kontrol Grubunun Korelasyon Analizleri

Spot idrar tetkiki	Spot idrar tetkiki	Korelasyon katsayısı	P değeri
Protein:kreatinin	Albümin:kreatinin	0,481 ^p	0,005
	B2MG:kreatinin	0,407 ^p	0,021
	UMOD:kreatinin	0,567 ^p	0,001
Albümin:kreatinin	B2MG:kreatinin	0,455 ^p	0,009
	KIM1:kreatinin	0,415 ^p	0,018
B2MG:kreatinin	UMOD:kreatinin	0,378 ^p	0,033