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

PRİMER MONOSEMPTOMATİK ENÜREZİS NOKTURNALI HASTALARDA AKUAPORİN-2 VE ARGİNİN VAZOPRESSİN GENLERİNİN YENİ NESİL DİZİ ANALİZİ İLE TARANMASI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Mürvet Neslihan ÇOLAK

DÜZCE-2021

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

PRİMER MONOSEMPTOMATİK ENÜREZİS NOKTURNALI HASTALARDA AKUAPORİN-2 VE ARGİNİN VAZOPRESSİN GENLERİNİN YENİ NESİL DİZİ ANALİZİ İLE TARANMASI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Mürvet Neslihan ÇOLAK

TIPTA UZMANLIK TEZ DANIŞMANI
Dr. Öğt. Üy. Nadide Melike SAV

DÜZCE-2021

ÖNSÖZ

İhtisas eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, her türlü fedakarlık ve özveriyi sabırla bize aşılayan başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof.Dr.Kenan KOCABAY'a,

Tez hazırlık sürecimde yanımda olan ve danışmanlık veren Dr.Öğr.Üyesi Nadide Melike SAV'a,

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesindeki destek ve katkılarından dolayı yardımlarını esirgemeyen, tüm içtenlik ve samimiyetiyle her türlü desteği sunan değerli hocam Prof.Dr.Recep ERÖZ'e,

İhtisas eğitimim süresince birlikte çalışma fırsatı bulduğum, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Prof.Dr.İlknur ARSLANOĞLU'na, Prof.Dr.Selmin KARADEMİR'e, Prof.Dr.Müferet ERGÜVEN'e, Doç.Dr.Sevim TÜRAY'a, Dr. Öğr. Üyesi Ramazan Cahit TEMİZKAN'a, Dr.Öğr.Üyesi Şükriye ÖZDE'ye,

Hayatımın her anında olduğu gibi, tezimi hazırlarken de her aşamasında bana yardımcı olan, gerek fikirleri gerekse maneviyatıyla ufkumu genişleten hayat arkadaşım, can yoldaşım, eşim Cüneyt ÇOLAK'a,

Tüm eğitim hayatım boyunca her kararımda her zaman yanımda olan, sabır abidesi melek annem Zehra ÇELİK'e,

Bu zorlu süreçte ders çalışmama izin verip yaramazlık yapmayan, hatta moral bozukluğum olduğunda bile bir gülüşleriyle beni motive eden can parçalarım, paha biçilmez varlıklarım, oğullarım Çınar Ahlas ve Doruk Atlas ÇOLAK'a,

Çocuklarımın babaannesi, fedakarlık ve mütevazilik kelimelerinin vücut bulmuş hali ikinci annem sevgili Gönül ÇOLAK'a ve çocukları için tüm sıkıntılara sesini çıkarmadan göğüs geren heykeli dikilesi babam Şaban ÇOLAK'a,

Üzerimdeki emeği asla ödenemeyecek olan anneannem Memnune ÇELİK'e ve bugünlere gelmemde katkısı büyük olan sevgili dayım Ömer ÇELİK'e,

Beni hiçbir koşulda yalnız bırakmayan kız kardeşlerim Aslıhan İREZ'e ve ikinci kız kardeşim dediğim baba yarısı görümcem Gülçin DOVA'ya,

Teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Dr. Mürvet Neslihan ÇOLAK

2021

ÖZET

Giriş-Amaç: Enürezis nokturna çocukluk çağının en sık karşılaşılan üriner sistem problemlerinden biridir. Doğuştan ya da kazanılmış santral sinir sistemi defekti olmayan beş yaşın üzerindeki çocuklarda istemsiz olarak uykuda gece altını ıslatma enürezis nokturna olarak tanımlanır. Etiyolojisinde birçok faktörün rol aldığı bilinmekle birlikte fizyopatolojisinde üç önemli faktör rol oynar. Bunlar nokturnal poliüri, uyanma bozukluğu, gece düşük mesane kapasitesi ile aşırı detrusör aktivitesidir. Çocukluk çağında enürezis nokturna görülen ebeveynlerin çocuklarında hastalığın görülme riskinin arttığı bilinmektedir. Ancak literatürde primer monosemptomatik enürezis nokturnalı (PMEN) hastalarda akuaporin-2 ve arginin vazopressin genlerinin yeni nesil dizi analizi ile taramasının yapıldığı bir çalışma yoktur. Biz bu çalışma ile primer monosemptomatik enürezis nokturnalı hastalarda yeni nesil dizi analizi yöntemiyle etiyolojiden sorumlu genetik değişimi ortaya koymayı amaçladık.

Gereç-Yöntem: Bu çalışma Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Nefrolojisi Polikliniği'nde primer monosemptomatik enürezis nokturna olarak değerlendirilen 40 hasta ve 10 sağlıklı kontrol ile yapılmış kesitsel ve genetik bir çalışmadır. Olguların hedeflenen moleküler genetik tanısı için ilk olarak rutin amaçlı istenilen tam kan örneklerinden geriye kalan atık kanlardan DNA izolasyon işlemi yapıldı. İzole edilen DNA örneklerinden hedeflenen gen bölgeleri, bu bölgelere spesifik primerler kullanılarak çoğaltılıp saflaştırma işlemi uygulandıktan sonra hedefe yönelik yeni nesil dizi analizi yöntemiyle bu bölgelerdeki mutasyonlar saptandı.

Bulgular: Primer monosemptomatik enürezis nokturna (PMEN) tanısı alan 40 hastanın 23'ü kız (%57,5), 17'si ise erkek (%42,5) idi. Kız/erkek oranı 1,35/1 olarak hesaplandı. Hasta grubunda 23 (%57,5) çocukta ailede enürezis öyküsü belirlendi. Hasta grubunda 30 (%75) hastanın ikinci derece akrabasında enürezis öyküsü tespit edildi. Çalışmamıza dahil olan deneklerde AQP2 geninde ekzon 1'de c.360+3G>A heterozigot, c.360+3G>A homozigot, V13=c.39G>A heterozigot varyasyonları, ekzon 2'de S167=c.501T>C heterozigot, S167=c.501T>C homozigot

varyasyonları, ekzon 4'te c.816+20C>A heterozigot, c.816+20C>A homozigot varyasyonları saptanmıştır. AVP geninde ise sadece ekzon 2'de c.322+2T>G homozigot ve R51H c.152G>A heterozigot varyasyonları saptanmıştır.

Sonuç: AQP2 ekzon 1'deki c.360+3G>A homozigot varyasyonu ve AVP geni ekzon 2'deki c.322+2T>G homozigot varyasyonuna sadece PMEN'lı çocuklarda rastlanmış, kontrol grubundaki çocuklarda rastlanılmamış olması nedeniyle tespit edilen bu değişikliklerin PMEN için belirteç olarak kullanılabileceğini düşünüyoruz.

Anahtar kelimeler: Enürezis nokturna, yeni nesil dizileme, akuaporin-2 (AQP2), arginin vazopresssin (AVP), çocuk

ABSTRACT

Investigation of Aquaporin-2(AQP2) and Arginin Vasopressin(AVP) Genes by Next Generation Sequencing Analysis in Primary Monosymptomatic Enuresis Nocturna

Introduction-Aim: Enuresis nocturna is one of the most common urinary system disorders of childhood. In children over five years of age who have no congenital or acquired central nervous system defects, nighttime wetting is defined as nocturnal enuresis nocturna. Although it is known that many factors play a role in its etiology, three important factors play a role in its physiopathology. These are nocturnal polyuria, awakening disorder, excessive detrusor activity with low bladder capacity at night. It is known that the risk of the enuresis is commonly seen in the children of the parents who have enuresis nocturna in their children. However, in the literature, there is no study in which aquaporin-2 (AQP2) and arginine vasopressin (AVP) genes were screened by a new generation sequence analysis in primary monosymptomatic enuresis nocturna patients. In this study, we aimed to reveal the genetic changes responsible for etiology by a new generation of sequence analysis method in patients with primary monosymptomatic enuresis.

Material-Method: This study was a cross-sectional and genetic study conducted with 40 patients who were evaluated as primary monosymptomatic enuresis nocturna and 10 healthy controls in Düzce University Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, Pediatric Nephrology Outpatient Clinic. For the targeted molecular genetic diagnosis of the cases, DNA isolation was firstly performed from the wasted blood remaining from the routine whole blood samples. The targeted gene regions from the isolated DNA samples were amplified and purified using primers specific to these regions and mutations in these regions were determined by targeted next generation sequencing.

Results: Of the 40 patients diagnosed with primary monosymptomatic enuresis nocturna (PMEN), 23 were female (57.5%) and 17 were male (42.5%). The female / male ratio was calculated as 1.35 / 1. In the patient group, 23 (57.5%) children had a family history of enuresis. In the patient group, 30 (75%) patients' second degree relatives had a history of enuresis. In the subjects included in our study, in the AQP2 gene c.360 + 3G> A heterozygous, c.360 + 3G> A homozygous,

V13=c.39G>A heterozygous variations in exon 1, S167 = c.501T> C heterozygous, S167 = c.501T> C homozygous variations in exon 2 , c.816 + 20C> A heterozygous, c.816 + 20C> A homozygous variations were detected in exon 4. In the AVP gene, c.322 + 2T> G homozygous and R51H c.152G> A heterozygous variations were detected only in exon 2.

Conclusion: The c.360 + 3G> A homozygous variation in AQP2 exon 1 and the c.322 + 2T> G homozygous variation in the AVP gene exon 2 were found only in children with PMEN, and these changes were not found in children in the control group. Therefore, we thought that these detected changes might be used as markers for PMEN.

Key Words: Enuresis nocturna, next generation sequencing analysis, aquaporin-2 (AQP2), arginine vasopressin (AVP), child

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ..... i

ÖZET..... ii

ABSTRACT.....iv

İÇİNDEKİLER.....vi

SİMGELER VE KISALTMALAR.....viii

ŞEKİLLER.....ix

TABLOLAR x

1.GİRİŞ VE AMAÇ 1

2. GENEL BİLGİLER..... 3

2.1.Mesanenin Fizyolojik Anatomisi Ve Normal Miksiyon 3

2.2. İdrar Kontrolünün Fizyolojisi 5

2.3. Enürezis..... 7

2.3.1. Tanım ve Sınıflama 7

2.3.2. Tarihçe 8

2.3.3. Epidemiyoloji 8

2.3.4. Etiyolojisi ve Patogenez 10

2.3.4.1.Ürodinamik faktörler..... 11

2.3.4.2.Hormonal bozukluklar..... 11

2.3.4.3. Uyku bozuklukları..... 12

2.3.4.4. Obstruktif Uyku Apnesi 13

2.3.4.5.Matürasyonda Gecikme..... 14

2.3.4.6. Psikososyal, kültürel ve sosyoekonomik faktörler 15

2.3.4.7. Beslenme ile ilgili faktörler..... 16

2.3.4.8. Tuvalet eğitimi..... 16

2.3.4.9. Ailesel ve genetik faktörler..... 17

2.3.5. ENÜREZİSLİ HASTAYA YAKLAŞIM VE DEĞERLENDİRME 18

2.3.6. TEDAVİ 20

2.3.6.1. Farmakolojik Olmayan Tedaviler..... 21

2.3.6.2. Farmakolojik Tedaviler 23

2.4. Enürezis ve Genetik..... 27

2.5. Akuaporin 2 (AQP 2) ve Arginin Vazopressin (AVP)..... 28

3. GEREÇ VE YÖNTEM 31

3.1.Araştırmanın Tipi, Yeri ve Hastaların Seçimi..... 31

3.2.Araştırmaya Dahil Olma Kriterleri..... 31

3.3.Araştırmanın Genel Planı 31

3.4.Genetik Çalışmalar 33

3.4.1. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) 33

3.4.2.DNA izolasyonu 34

3.4.3.Primerlerin tasarımı 35

3.4.4.Çalışma stratejisi 36

3.4.5. PCR optimizasyonu 36

3.4.6. Yeni nesil dizi analizi (Next-Generation sequencing) (NGS) 37

3.5. Çalışma Prensibi 38

3.6. İstatistiksel Analiz 39

4. BULGULAR 40

5.TARTIŞMA 60

6. SONUÇLAR 67

7.KAYNAKLAR 68

8.EKLER 81

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACh: Asetilkolin

ADH: Antidiüretik hormon

ANP: Atrial natriüretik peptid

ATP: Adenozin trifosfat

AVP: Arginin vazopressin

AVPR2: Vazopressin reseptörü tip 2

AQP-2: Aquaporin-2 (akuaporin-2)

BNP: Beyin natriüretik peptid

DEHB: Dikkat eksikliği-hiperaktivite bozukluğu

DSM: Mental bozuklukların tanısal ve sayımsal el kitabı

EEG: Elektroensefalogram

EN: Enürezis nokturna

HGN: Hipogastrik sinir

ICCS: Uluslararası çocuk kontinans derneği

IMP: Alt mezenterik pleksus

MNE: Monosemptomatik nokturnal enürezis

NA: Noradrenalin

NGS: Next Generation Sequence analysis - Yeni nesil dizi analizi

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu

PEL: Pelvik sinirler

PMEN: Primer monosemptomatik enürezis nokturna

PKA: Proteinkinaz A

PP: Pelvik pleksus

SHP: Üst hipogastrik pleksus

SN: Siyatik sinir

TCA: Trisiklik antidepresan

TSH: Tiroid stimülan hormon

VKİ: Vücut kitle indeksi

ŞEKİLLER

Şekil 1: Alt üriner sistem innervasyonu ve düzenleyici nörotransmitter mekanizması

Şekil 2: Uykuda düzensiz solunumun enürezise neden olma mekanizması

Şekil 3: Böbrek toplayıcı kanal hücrelerinde AVP etki mekanizması

Şekil 4: Tüm bireylerin AQP2 geni ekzon 1 varyasyon durumu

Şekil 5: Kontrol Grubundaki 3 numaralı olgunun AQP2 geni ekzon 1 c.360+3G>A heterozigot varyasyonu NGS görüntüsü

Şekil 6: Hasta grubundaki 13 numaralı olgunun AQP2 geni ekzon 1 c.360+3G>A homozigot varyasyonu NGS görüntüsü

Şekil 7: Kontrol Grubundaki 3 numaralı olgunun AQP2 geni ekzon 1 V13=c.39G>A heterozigot varyasyonu NGS görüntüsü

Şekil 8: Tüm bireylerin AQP2 geni ekzon 2 varyasyon durumu

Şekil 9: Kontrol Grubundaki 3 numaralı olgunun AQP2 geni ekzon 2 S167=c.501T>C heterozigot varyasyonu NGS görüntüsü

Şekil 10: Kontrol Grubundaki 7 numaralı olgunun AQP2 geni ekzon 2 S167=c.501T>C homozigot varyasyonu NGS görüntüsü

Şekil 11: Tüm bireylerin AQP2 geni ekzon 4 varyasyon durumu

Şekil 12: Hasta grubundaki 29 numaralı olgunun AQP2 geni ekzon 4 c.816+20C>A heterozigot varyasyonu NGS görüntüsü

Şekil 13: Kontrol Grubundaki 7 numaralı olgunun AQP2 geni ekzon 4 c.816+20C>A homozigot varyasyonu NGS görüntüsü

Şekil 14: Tüm bireylerin AVP geni ekzon 2 varyasyon durumu

Şekil 15: Hasta grubundaki 30 numaralı olgunun AVP geni ekzon 2 c.322+2T>G Homozigot varyasyonu NGS görüntüsü

Şekil 16: Kontrol Grubundaki 2 numaralı olgunun AVP geni ekzon 2 R51H c.152G>A Heterozigot varyasyonu NGS görüntüsü

TABLOLAR

Tablo 1: PCR reaksiyon miks içeriği

Tablo 2: Yapılacak PCR işlemi için belirlenen döngüleri ve sürelerini gösteren protokol

Tablo 3: Hasta ve kontrol grubunun yaş, antropometrik ve laboratuvar bulguları

Tablo 4: Hasta ve kontrol grubunda enürezis nokturna öyküsü dağılımı

Tablo 5: Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri ve yakın akrabada enürezis öyküsü dağılımları

Tablo 6: Hasta ve kontrol gruplarındaki AQP2 ve AVP genlerindeki genetik varyasyonların dağılımı

Tablo 7: Tüm olguların AQP2 geni ekzon 1 genetik varyasyon olup olmama durumuna göre uykuda idrar kaçırma durumu

Tablo 8: Tüm olguların AQP2 geni ekzon 1 genetik varyasyon olup olmama durumuna göre uyanmada güçlük durumu

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Enürezis nokturna (EN), doğuştan ya da kazanılmış santral sinir sistemi veya üriner sistem defekti olmayan beş yaşın üzerindeki çocuklarda istemsiz olarak uykuda gece altını ıslatma olarak tanımlanır (1).

Primer enürezis nokturna idrar kontrolünün doğumdan itibaren hiç sağlanamaması olarak tanımlanırken sekonder enürezis nokturna idrar kaçırmanın altı aydan uzun süreli bir kuru dönemden sonra tekrar başlaması olarak ifade edilir (2). Enürezis nokturna (EN) monosemptomatik ve monosemptomatik olmayan şeklinde iki alt grupta incelenmektedir. Monosemptomatik enürezis nokturnada tek belirti uykuda yatağın ıslatılmasıdır. Monosemptomatik olmayan enürezis nokturnada ise uykuda yatağını ıslatmanın yanında gündüzleri ani sıkışma hissi, sık idrara gitme, gündüz idrar kaçırma gibi işeme disfonksiyonu bulgularının da eşlik etmesi olarak tanımlanır (3).

Etyolojisinde birçok faktörün rol aldığı bilinmekle birlikte patogenezinde üç önemli faktör rol oynar. Bunlar nokturnal poliüri, yüksek uyarılma eşiği, gece düşük mesane kapasitesi ile aşırı detrusör aktivitesidir (4). Tedavi planlaması patogenezdeki bu üç önemli faktör göz önüne alınarak yapılmalıdır. Hastaların yaklaşık 2/3'ünde nokturnal poliüri görülmektedir. Bu nedenle medikal tedavide ilk tercih desmopressindir. Nokturnal poliürisi olan hastalar tedaviye en iyi yanıt veren hasta grubudur (3).

Desmopressin, antidiüretik hormon olarak bilinen arginin vazopressinin sentetik bir analoğu olup antidiüretik etkisi ile hem idrar üretimini azaltır hem de idrarın konsantrasyonunu arttırır (5).

Böbrek toplayıcı kanallarında suyun geri emilimi ve idrar konsantrasyonunun düzenlenmesi arginin vazopressin hormonu tarafından düzenlenen akuaporin-2 su kanalları ile sağlanır (6). Toplayıcı kanal hücrelerindeki akuaporin-2 miktarının çeşitli poliürik bozukluklarda azaldığı gösterilmiştir (7).

Bu çalışmada primer monosemptomatik enürezis nokturnalı (PMEN) hastalarda etyolojiden sorumlu genetik değişimi ortaya koyabilmek için akuaporin-2 ve arginin vazopressin genlerinin yeni nesil dizi analizi ile taramasını yaparak patogeneze neden olan mutasyonları saptamayı ve bu konu ile ilgili literatürde eksik

olan PMEN'nın genetik temelinin anlaşılmasını amaçladık. Böylece hastalığın oluşumundan en çok sorumlu tutulan faktör olan nokturnal poliürinin düzeltilmesinin akuaporin-2 ve arginin vazopressin genlerinde meydana gelen değişiklikler göz önünde bulundurularak uygulanılacak olan terapötik yaklaşımlar ile tedavi maliyetinin azaltılmasının yanı sıra hastalar için yan etkilerin daha az olduğu yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlanabilecektir.

.

2. GENEL BİLGİLER

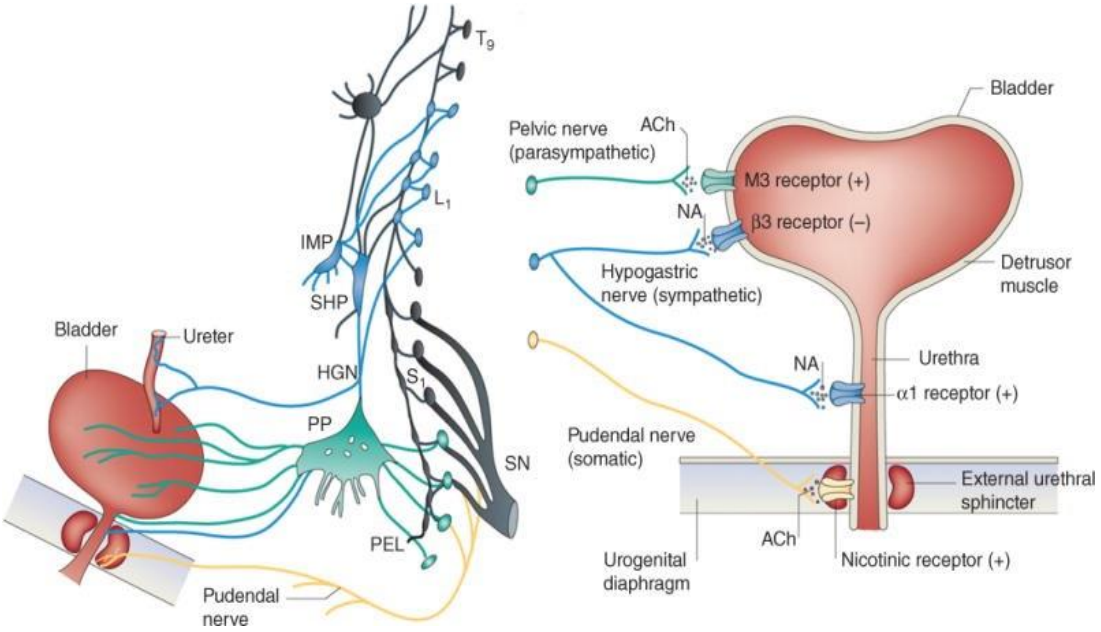
2.1.Mesanenin Fizyolojik Anatomisi Ve Normal Miksiyon

Mesane depolama ve boşaltım olmak üzere iki ana işlevi olan bir organdır. Detrusor adı verilen bir düz kas katmanına sahiptir (8). Detrusor mesane duvarının ana bileşenidir (9). İdrar kesesinin iç yüzü, kasları idrardan ayıran mukoza ile kaplıdır. Mukoza mesanenin dolum derecesini ve idrar içeriğini algılayan duyusal işleve sahiptir. Mesane duvarındaki bu yapı, mesane duvarı kas aktivitesini düzenleyen ATP, asetilkolin, prostoglandin ve nitrik oksit gibi kimyasalların salınımını da sağlar (10).

Mesane idrarın toplandığı gövde ve üretraya bağlanan boyun olmak üzere iki ana kısımdan oluşur. Boyun kısmına üretra ile ilişkisinden dolayı posterior üretra da denmektedir. Detrusor kas lifleri mesane içinde tüm yönlere uzanır ve kasıldığı zaman mesane içi basıncını 40-60 mmHg'ya kadar arttırarak mesanenin boşalmasını sağlar. Mesanenin arka duvarında, mesane boynunun üst kısmında ise üçgen şeklinde trigon adı verilen bir alan bulunur (11). Böbreklerden gelen idrarın mesaneye taşınması trigona distal olarak giren üreterler yoluyla gerçekleşir (8). Üreterler mesaneye eğik bir açıyla girer ve detrusor kası içerisinde yaklaşık 1,5 cm oblik olarak ilerledikten sonra mesaneye açılır. Üreterin bu intravezikal kısmı idrarın geriye kaçışının önlenmesinde fizyolojik bir yapı oluşturur (8,11). Mesane boynu yani posterior üretra olarak da adlandırılan yapı 2-3 cm uzunluğundadır ve detrusor kas liflerinden oluşur. Burada bulunan kas grubuna iç sfinkter adı verilir. İç sfinkterin tonusu sayesinde mesane içi basınç eşik değeri aşıncaya kadar idrar kesesinin boşalması engellenir. Mesane dış sfinkteri olarak adlandırılan yapı ise çizgili kaslardan oluşmuştur, bu nedenle istemli kontrol altındadır ve mesanenin boşalmasını istemli olarak engeller (11).

İşeme refleksi otonom reflekslerden biridir ancak beyin ve omurilikteki merkezleri içeren istemli sinirsel mekanizmalar tarafından düzenlenir. Mesaneden

beyne giden iki afferent yol vardır. Bunlardan biri dorsal sistem diğeri ise spinotalamik yolaktır. Afferentler pontin işeme merkezine omuriliğin lateral funikülünden geçen spinotegmental yol ile ulaşır (12). İdrarın depolanması ve periyodik olarak boşaltılması alt üriner sistemdeki üretral sfinkter ve mesanenin koordine edilmiş aktivitesi sonucu gerçekleşir. Alt üriner sistem, omuriliğin torasik ve lumbosakral segmentlerinden bilateral efferent innervasyon alır. Efferent aksonlar 3 grup periferik sinirde taşınır. Bunlar sakral parasempatik (pelvik sinirler), torakolomber sempatik (hipogastrik sinirler ve sempatik zincir) ve sakral somatik (pudental sinir) sinirlerdir (13). Esas innervasyonu sağlayan pelvik sinirler yapısında hem motor hem de duyusal sinir lifleri bulundurur. Duyusal lifler mesane duvar gerginliğini algılarken pelvik sinir içindeki parasempatik motor lifler idrar kesesi duvarındaki ganglionlarda sonlanır ve bunların devamındaki postganglioner lifler detrusor kasının innervasyonunu sağlar (11). Pudental sinir içerisinden geçen somatik motor lifler dış üretral sfinkterin çizgili kaslarını innerve eder. Ayrıca idrar kesesi sempatik zincirden hipogastrik sinirler yoluyla gelen sempatik liflerle de innerve olur (11,13).



Şekil 1: Alt üriner sistem innervasyonu ve düzenleyici nörotransmitter mekanizması (13)

Normal miksiyon; mesanenin dolduğu bilgisi sinir sistemine iletildikten sonra fiziksel ve sosyal olarak uygun bir zamanda istemli olarak gerçekleşir (14). Mesanenin içerisinde idrar yokken iç basıncı hemen hemen sıfırdır. Birkaç mililitre idrar dolduktan sonra basınç 5-10 cm H_2O'ya yükselir. Bu durum sistometri yapıldığında detrusor basıncının kısa süreli olarak arttığı 'Faz 1' e karşılık gelir. İdrar mesaneye dolmaya devam ettikçe basınç, yaşa göre kapasitenin değişmesiyle doğru orantılı olarak belli bir hacme kadar neredeyse sabit kalır. Bu dönem de sistometrideki 'Faz 2' ye karşılık gelir. Mesanenin viskoelastik özelliklerine göre belirli bir limite ulaştıktan sonra bu eşik değeri geçilir ve mesane içi basınç hızla yükselir. Basıncın hızla arttığı bu dönem 'Faz 3'e karşılık gelir. Uygun ortam mevcut olduğunda istemli olarak kontrol edilen dış sfinkter gevşer ve işeme gerçekleşir. Bu fazın başlangıcındaki istemli detrusor kontraksiyonları da sistometride 'Faz 4' olarak adlandırılır. Mesanenin dolumu sırasında basıncı periyodik olarak aniden yükselen detrusor kasılmaları gerçekleşir. Bu duruma işeme refleksi neden olur. Bu refleks özellikle posterior üretrada bulunan ve mesane basıncı yükseldiğinde posterior üretranın da dolması ile uyarılan gerilme reseptörlerinin aktive olmasıyla ortaya çıkar. Uyarılan reseptörler pelvik sinirler içerisinde bulunan sinir lifleri aracılığı ile omuriliğin sakral segmentine ulaşır. Aynı sinir içerinde bulunan parasempatik liflerle de yanıt detrusorda kasılma olarak görülür. Mesane çok dolu değilse bu kasılma kısa sürede ortadan kalkar ve detrusor spontan tonusuna geri döner. Mesane doldukça kasılma şiddeti ve sıklığı artar. Bu şiddet işeme eyleminin istemli olarak meydana gelmesine kadar pudental sinir ve eksternal sfinkter aracılığı ile baskılanır. Bu baskılama olmadığında işeme eylemi gerçekleşir (15).

2.2. İdrar Kontrolünün Fizyolojisi

İdrarın depolanması ve boşaltılmasını kontrol eden sinir sistemi oldukça karmaşık bir yapıdadır. Beyin ve omurilik dahil olmak üzere merkezi sinir sisteminin bir çok seviyesindeki yolları, periferik sinir sistemini ve bunlara eşlik eden nörotransmitterleri içerir (16).

Bireysel farklılıklar göz ardı edilirse idrar kontrolünün gelişimi 4 ayrı evrede incelenebilir. Birinci evre: 0-6 aylık dönemde hem gece hem de gündüz işeme inhibe

edilmemiş refleksler ile sağlanır. Bu dönemde idrar kesesi detrusor kasının refleks kasılmaları ile sık aralıklarla (20 defa/gün) istemsiz olarak boşaltılır. Mesane dolduğunda refleks yolağının afferent uyarımı tetiklenir. Efferent yanıt olarak mesane düz kasının kasılması ile birlikte eksternal sfinkter gevşer. Bu dönemde alt üriner sistem otonom sinir sistemi kontrolü altındadır. İkinci evre: 6. aydan 12. aya kadar olan dönemdir. Bu dönemde santral sinir sisteminin inhibe edici etkisi ile idrar kesesinin boşalmasında reflekslerin önemi azalır. İşeme seyrekleşir ve idrar hacmi artar. Üçüncü evre: 1-2 yaş arası olan dönemdir. İdrar kesesinin doluşu bilinçli olarak hissedilir ve işeme sayısı daha da azalır. Daha sonra işemeyi belli bir zaman sonrasına kadar erteleyebilme yetisi kazanılır. Dördüncü evre: 3-5 yaş arası dönemdir. Bu dönemde mesane doluş hissi oluşur. İşeme hem istemli hem de istemsiz olarak inhibe edilebilir. İdrar kesesi tam dolu olmasa bile istemli olarak işeme başlatılabilir (17,18,19).

Süt çocuklarında işeme spinal kord refleksi olarak kendiliğinden meydana gelir. Yeterli mesane distansiyonu, refleks arkının afferent kolunu uyardığında detrusor kontraksiyonu görülür. Hatta bu yaşlarda periüretral çizgili kaslar tamamıyla işeme refleksine katılır ve idrar kesesi dolduğu zaman inkontinansı önlemek için, üriner sfinkter progresif olarak kasılır. İşeme sırasında çizgili kastan oluşan sfinkter, düşük basınçlı mesane boşalmasına izin vermek için gevşer. İşeme refleksi ancak beyindeki bazı merkezler tarafından inhibe edilebilir. Beyin sapındaki güçlü baskılayıcı ya da uyarıcı merkezler ponsta yer alır. Serebral kortekste yer alan birçok merkez daha çok baskılayıcı etkiye sahiptir. Miksiyon refleksi temelde idrar boşaltılmasına neden olursa da işemenin son kontrolü üst merkezler tarafından yapılır. Miksiyon refleksi gelişse bile üst merkezler bu refleksi inhibe eder ve uygun zaman gelinceye kadar mesane boyunu dış sfinkteri, sürekli tonik kasılma halinde kalır. İdrar boşaltma istendiği zaman üst merkezler sakral işeme merkezleri üzerinden miksiyon refleksinin başlamasına yardımcı olur ve dış sfinkteri inhibe ederek idrarın boşaltılmasını sağlar (20).

İşeme 3-5 yaş arası olan döneme kadar istemsiz olarak meydana gelir ve yaşamın bu döneminde sadece otonom sinir sistemi tarafından kontrol edilir ve daha sonra işemenin kontrolü istemli olarak sağlanır (21).

Genellikle çocuklarda mesane ve bağırsak kontrolünün kazanılması sırasıyla gece dışkılama kontrolü, gündüz dışkılama kontrolü, gündüz işeme kontrolü, uykuda işeme kontrolü şeklindedir. Çoğu çocukta gelişim sırası aynı olmakla birlikte son aşama yani uykuda idrar kontrolünün sağlanması kişisel farklılık gösterebilmektedir (20).

2.3. Enürezis

2.3.1. Tanım ve Sınıflama

Enürezis, ICCS (The International Children's Continence Society: Uluslararası Çocuk Kontinans Derneği) tarafından beş yaşından sonra sosyal olarak uygunsuz yer ve zamanda işeme olarak tanımlanmıştır. Organik bir nedene bağlı olan idrar kaçırma durumu ise 'inkontinans' olarak ifade edilmektedir (22).

DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manuel of Mental Disorders-Fourth Edition: Mental Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı) tanı ölçütlerine göre ise EN'nın tanı kriterleri şunlardır (23):

1)Yatağa ya da kıyafetlere tekrarlayıcı bir şekilde istemsiz ya da amaçlı olarak idrar kaçırma.

2)En az birbirini takip eden üç ay boyunca, haftada en az iki kez bu durumun yaşanması ya da klinik açıdan belirgin bir sıkıntıya neden olması veya toplumsal alanda ya da diğer işlevsellik alanlarında bozulmaya neden olması.

3)Takvim yaşının beş yaşın üstünde olması.

4)Bunun bir ilaca (diüretik, antipsikotik gibi) veya tıbbi bir duruma (spina bifida, diabet, konvülsiyon) bağlı olmaması.

Primer enürezis doğumdan itibaren en az altı ay kuru dönemi olmayan çocuklarda altını ıslatma, sekonder enürezis ise en az altı aylık bir kuru dönemden sonra altını ıslatmanın tekrar başlaması olarak tanımlanır (24). Ayrıca enürezis monosemptomatik ve monosemptomatik olmayan şeklinde de sınıflandırılır. Monosemptomatik olmayan enürezis gündüz idrar kaçırma, acil tuvalete gitme hissi

gibi alt üriner yol semptomları ile birliktelik gösterir. Enüretik ataklar haftada dört ya da daha fazla meydana gelirse sık olarak kabul edilir (25).

2.3.2. Tarihçe

Enürezis kelimesi, Eski Yunanca'da idrar yapma anlamına gelen 'ourein' kelimesinden türetilmiştir ve enürezis uyku sırasında istemsiz idrar boşalması olarak tanımlanmaktadır (26).

Enürezis nokturna şüphesiz insanlığın ilk günlerinden beri görülmektedir ve konu ile ilgili ilk referans bilgiler milattan önce 1550'deki Eber papirusunda bulunur. Romalı yazar Yaşlı Pliny'nin 'Doğa Tarihi' adlı kitabında bebeklerdeki üriner inkontinansın yiyeceklerinde haşlanmış fareler verilerek kontrol edildiğini belirtmiştir. 1472 yılında Padua'dan Paulus Bagellardus 'idrar kaçırma ve yatak ıslatma' başlıklı bir bölümü de içeren ilk çocuk hastalıkları kitabını yayınladı. 1545'te Thomas Phair çocukluk çağı hastalıkları ile ilgili ilk İngiliz ders kitabını hazırladı ve burada enürezisten bahsetti (27). 18. Yüzyılda enüretik çocuklar çeşitli kimyasal ve mekanik işlemlere tabi tutuldu. Örneğin 1762'de Dickson sakral bölgeye demirden yapılmış bir alet ile vitriol uyguladı (28).

Bazı ilkel toplumlarda uygulanmakta olan tedavi yöntemleri arasında kaynatılmış tavuk kursağı, beyaz kasımpatı çayı, içerisinde 24 saat boyunca yabani tavşan testisi bekletilmiş bir bardak kırmızı şarap ya da tavuklardan çıkarılan mide mukozasının süt içine katılarak içirilmesinden bahsedilebilir. Bu ilginç yöntemlerin yanında , modern tedavi yöntemleri kadar hassas yöntemler de dikkati çekmektedir. Örneğin, uyuyan çocuğun beline kurbağa bağlamak günümüzdeki alarm tedavisinin, yatmadan önce bol tuzlu şeyler yedirmek de antidiüretiklerle yapılan tedavinin ilkel şekli olarak karşımıza çıkmaktadır (29,30,31).

2.3.3. Epidemiyoloji

Primer enürezis nokturna çocukluk ve ergenlikte çok yaygın olan önemli klinik ve sosyal bir problemdir. Yayınlanmış epidemiyolojik çalışmalardaki değerler ülkeler arasında biraz farklı olsa da genel prevalansın coğrafi konumlara

bakılmaksızın hemen hemen aynı olduğu görülmektedir (32). 5 yaşındaki çocukların %15-20'si, 7 yaşındakilerin %5-10'u, 10 yaşındakilerin %5'i, 15 yaşındaki çocukların %1-3'ü bu durumdan etkilenir. Genel olarak prevalans yaş ilerledikçe azalır. Gündüz inkontinansı kızlarda çokken, EN erkeklerde daha sık görülür (33). İstanbul'un çeşitli yerlerindeki okullarda 6-16 yaş arası 1576 çocuk üzerinde yapılan bir çalışmada çocuklarda enüresis sıklığı %12,4 olarak bulunmuştur (34). Yine İstanbul'da 11-14 yaş arası 2750 öğrenci ile yapılan bir çalışmada EN prevalansı %8,6 saptanmış ve yaşla birlikte sıklığın azaldığı görülmüştür (35). Ankara'da 6-12 yaş arası 1339 çocuk ile yapılan bir çalışmada ise nokturnal enürezis prevalansı %17,5 bulunmuştur (36). Ülkemizde Şanlıurfa ilinde 6-16 yaş arası 562 çocukta yapılan bir çalışmada ise nokturnal enürezisin genel prevalansı %14,9 saptanmıştır. Prevalansın yaşla birlikte azaldığı, altı yaşındaki çocukların %33,3'ünde, 15 yaşındaki çocukların %2,6'sında EN problemi olduğu görülmüştür. Düşük gelirli ailelerde enürezis sıklığının daha fazla olduğu çalışmanın sonuçlarındandır (37). Güney Afrika'da 3389 çocukla yapılan çalışmada EN prevalansı %16 bulundu, çocukların %14,4'ünün monosemptomatik enürezis nokturnadan etkilendiği ortaya koyuldu. Erkeklerde nokturnal enürezisin kızların iki katı olduğu saptandı. Monosemptomatik enürezis nokturnalı çocukların %50,5'inde aile öyküsünün pozitif olduğu görüldü. Çocukların %15,8'i kabız olarak değerlendirildi (38). Japonya'da 7-12 yaş arası ilkokul çağındaki 5282 çocuk üzerinde yapılan çalışmada çocukların %5,9'unda nokturnal enürezis olduğu görülmüştür. Erkeklerde %7,5 kızlarda %4,1 oranında saptanmıştır. Nokturnal enürezisli vakaların %59,4'ünde monosemptomatik nokturnal enürezis görülmüştür. Bunların %3,7'si haftada 1'den fazla, %0,9'u her gece altına kaçırmaktadır. Vakaların %40,6'sını gündüz semptomlarının eşlik ettiği saptanmıştır. Bu vakalarda da erkeklerin sayısı kızların iki katıdır (39).

Epidemiolojide genetik yatkınlık önemli bir faktördür. Her iki ebeveynin de çocukken enüretik olduğu durumda çocuklarda EN görülme riski %77 iken, ebeveynlerden birinin çocukken enüretik olduğu durumlarda risk %43'e düşmektedir (40). 79 çocuk üzerinde yapılan başka bir çalışmada enüretik çocukların %19'unda annelerinin, %10'unda babalarının, %37'sinde ise kardeşlerinin çocukken EN öyküsü olduğu öğrenilmiştir (41). Finlandiya'da yapılan bir ikiz çalışmasında EN'nın

monozigot ikizlerde, dizigot ikizlere göre daha fazla birlikte görüldüğü saptanmıştır (42).

Amerikada 5-7 milyon arası çocuk ve ergenin bu hastalıktan etkilenmiş olabileceği tahmin edilmektedir. Enürezis nokturna yılda %15 oranında iyileşme gösterir, bu yüzden çocukların %99'u 15 yaşına kadar bu durumdan kurtulmuş olur. Ancak EN'nın sosyal sonuçları bir çok kişinin tıbbi yardım almasına neden olmaktadır. Altını ıslatma durumu okula başladıktan sonra devam eden çocuklar için önemli bir utanç ve stres kaynağıdır (43).

Enürezis prevalansı ile ilgili en önemli çalışmalardan biri ise Butler ve Heron'un 2008'de sonuçlarını bildirdikleri ALSPAC (Avon Longitudinal Study of Parents and Children) çalışmasıdır. Bu çalışmada, 1 Nisan 1991 ve 21 Aralık 2002 arasında doğan 13973 bebek longitudinal olarak izlenmiş ve ailelerine 15, 24, 38, 54, 65, 78, 91 ve 115 aylık olduklarında anket uygulanmıştır. Bu çalışmada, nokturnal enürezis tanısı DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders) sınıflamasına göre haftada en az iki gece idrar kaçırma olarak belirlenmiştir. Buna göre, enürezis prevalansı 54 aydan itibaren sırasıyla %8.4, %6, %4, %2.6 ve 115 ayda %1,5 olarak bildirilmektedir. Seyrek enürezis olarak haftada 2 defadan daha az ıslatma kabul edildiğinde prevalans yaş gruplarına göre sırasıyla %21.6, %16.2, %15.6, %12.8 ve %8.2 bulunmuştur (44).

Genel olarak prevalans çalışmalarına bakıldığında 15'ler kuralı adı verilen bir tablo karşımıza çıkar. Şöyle ki: Beş yaşındaki çocukların %15'i, 10 yaşındaki çocukların %5'i ve 15 yaşındaki çocukların %1'i enüretiktir. Enüretiklerin %15'inde enkoprezis vardır. Enüretiklerin her yıl %15'i kendiliğinden düzelir. Enüretiklerin %15'inin gündüz semptomları da vardır. Enüretik olmayanların %15'inde nokturnal poliüri vardır. Enüretik olmayanların %15'inde nokturnal uyanmalar vardır (45).

2.3.4. Etiyolojisi ve Patogenez

Enürezis, merkezi sinir sistemi mesane kontrol mekanizmalarının komorbiditeleri ve olgunlaşamamasından etkilenebilecek güçlü bir genetik bileşene sahip çok faktörlü bir durumdur (46). Enürezis etyolojisinde %97-99 oranında organik olmayan nedenler rol alır. Enürezis nokturna tanısını netleştirmek için

diabetes mellitus, diabetes insipitus, ektopik üreter, nörojen mesane, obstruktif üropati, adenoid hipertrofisine bağlı uyku apnesi, vajinit, üriner sistem enfeksiyonu gibi organik patolojiler ekarte edilmelidir (47).

2.3.4.1.Ürodinamik faktörler

Enüretik çocukların, gece kuru olan çocuklara göre daha küçük fonksiyonel mesane kapasitelerinin olduğu gösterilmiştir (48). Bu durum gündüz sık idrara gitme, ani sıkışma hissi ve aralıklı olarak idrar kaçırmaya sebep olmak için de yeterlidir. Yapılan gece sistometri çalışmaları küçük idrar hacimlerinin mesanedeki spontan kasılmaları başlattığını göstermiştir. Enüretik olmayan çocuklarda enfeksiyon nedeniyle mesane içinin tahrişi sonucu spontan mesane kasılmaları meydana gelmesiyle enürezis ortaya çıkmıştır (49).

Mesane kapasitesinin düşüklüğü, spontan mesane kasılmalarının kalıcılığı, geceleri fonksiyonel mesane kapasitesini aşan idrar hacimleri varlığı ürodinamik açıdan enürezise yol açan durumlardır (50). Dirençli monosemptomatik enürezis nokturnalı 34 çocuk ile yapılan bir çalışmada tedaviye başlamadan önce tüm hastaların yaşına göre beklenenden düşük mesane kapasitesine sahip olduğu gösterilmiştir. Alarm, işeme ve oksibutinin ile yapılan kombine tedavi sonrası enürezis şikayeti gerileyen hastaların mesane kapasitesinin normal yaşta beklenen artışa ulaştığı saptanmıştır (51).

2.3.4.2.Hormonal bozukluklar

Nokturnal poliürisi olan çocukların çoğunda gece yetersiz ADH artışı olduğu kabul edilmektedir. Nokturnal poliürili çocuklarda majör patogenetik faktörün gece AVP düzeyinde azalma olduğunu gösteren bulgular mevcuttur. ADH salgılanması, uyku sırasında düşük hacimli ve oldukça konsantre idrar çıkışını sağlamak için artar. Ancak enürezis ve nokturnal poliürisi olan birçok çocukta bu sirkadyen ritim görülmez. Hastaların büyük bir bölümünde gece düşük vazopressin seviyeleri gösterilmiştir. Bu nedenle nokturnal poliürisi olan çocukların desmopressinden fayda görme ihtimali daha fazladır (52).

Enürezis nokturnalı çocuklarda ilk kez Puri tarafından ADH sekresyonunda düzensizlik olabileceği gösterilmiştir. Daha sonra Norgaard tarafından yapılan bir çalışmada, EN'lı çocuklarda gece idrar miktarının mesanenin fonksiyonel kapasitesinden fazla olduğu gösterilmiş ve yine bu çalışmada enüretiklerde bir gün boyunca ölçülen vazopressin düzeyinin, sağlıklı çocukların aksine stabil olduğu görülmüştür (53).

2.3.4.3. Uyku bozuklukları

Yapılan bir araştırmaya göre ebeveynler uyku enürezisi olan çocukların uykusunun, uyku enürezisi olmayan çocukların uykusundan daha derin olduğunu ve uyandırılmalarının çok zor olduğunu belirtmektedirler. Ancak bu ebeveyn algısı objektif çalışmalar tarafından her zaman teyit edilmemiştir. Uyku elektroensefalogramı (EEG) spektral analizi kullanılarak yapılan bazı çalışmalar derin uyku belirtisi olan delta dalgalarında artış olduğunu öne sürse de diğer çalışmalar uyku enürezisi olan çocuklarda daha hafif uyku varlığını göstermişlerdir (54). Enürezis esas olarak gecenin ilk bölümünde gerçekleşir ve tüm uyku evrelerinde ortaya çıkabilir. Ayrıca enürezisin meydana geldiği ve meydana gelmediği geceler boyunca uyku yapısı benzerdir (55).

Polisomnografik çalışmalar nokturnal enürezisi olan ve olmayan çocukların uyku yapısında önemli bir fark olmadığını göstermiştir. Yapılan bir çalışma nokturnal enürezisli çocukların uykusunun enürezis olayları nedeniyle daha fazla bölündüğünü göstermiştir. Aktigrafik uyku ölçümleri nokturnal enürezisi olan çocukların kontrol grubuna kıyasla daha kısa uyku sürelerine, daha az hareketsiz uyku ve gece daha fazla uyanma oranlarına sahip olduğunu göstermiştir. Ek olarak kontrol grubuna kıyasla nokturnal enürezisli çocukların uykuya dalmak için daha fazla zamana ihtiyaç duydukları, gece daha sık uyandıkları, yatmadan önce daha yorgun hissettikleri ve sabahları daha yorgun oldukları saptanmıştır (56).

Enürezisi olan çocuklarda mesane fonksiyonları ile uyanma zorluğu arasındaki dinamik ilişkinin varlığını araştıran çalışmalarda, uyku EEG'si ile eş zamanlı sistometri izlemi yapılmış olup enürezis sırasındaki EEG paternine göre vakalar 3 tip gruba ayrılmıştır. Tip 1, mesane doluluğuna belirli bir EEG paterni ile

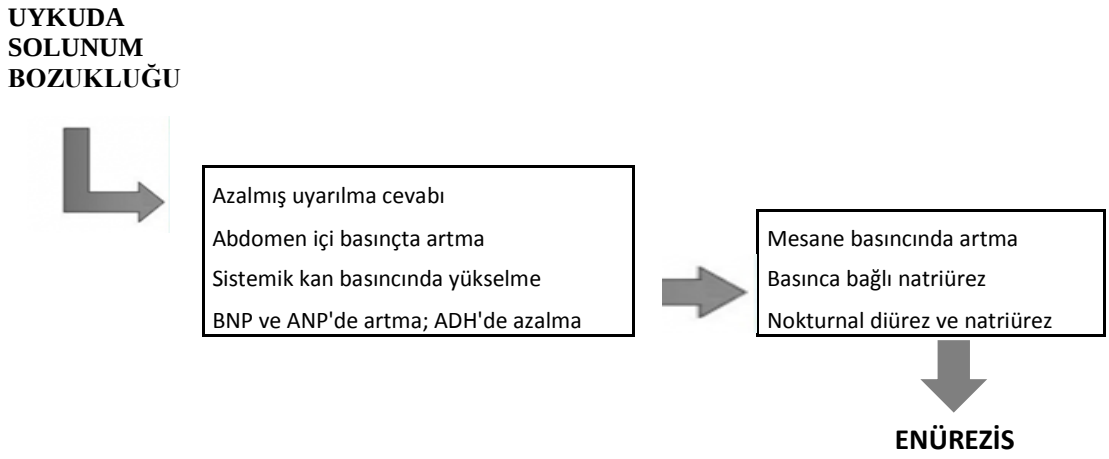
yanıt veren ve mesanesi tamamen stabil olan gruptur. Bu grupta çocuk hafif uykudan uyanıklık sürecine girdiği anda altını ıslatır ancak enüretik atak hasta uyanamadan ortaya çıkar. Yaygın olan tip budur. Tip 2a grubunda mesane doluluğuna EEG yanıtı yoktur ve mesane sistometride stabil görünür. Bu durum uyanma mekanizmasındaki ciddi sorunun göstergesidir. Tip 2b grubunda ise EEG yanıtı olmamakla birlikte mesane uyku sırasında da unstabildir. Tip 2a ve tip 2b gruplarında enürezis derin uyku sırasında oluşur. Tiplere göre dağılım; tip 1 %58, tip 2a %10, tip 2b %32 oranındadır (57, 58).

2.3.4.4. Obstruktif Uyku Apnesi

Obstruktif uyku-düzensiz solunum sendromu, uyku sırasında oluşan horlama ve/veya artan solunum çabasıyla karakterize üst solunum yolu disfonksiyonudur. Obstruktif uyku apne sendromu ise tanıklı apne varlığı, dinlendirmeyen uyku ve gündüz aşırı uykululuk ile karakterizedir (59). Çalışmalar obstruktif uyku apne sendromu olan çocuklarda sıklıkla nokturnal enürezis olduğunu göstermiştir (60). Adenotonsiller hipertrofi, obstruktif uyku apne sendromu ile ilişkili önemli bir faktör olarak kabul edilir. Adenotonsillektomi, obstruktif uyku apne sendromu için ilk seçenek tedavidir ancak solunum komplikasyonları riskinin yüksek olması nedeniyle dikkatli bir postoperatif izlem gerektirir (61). Tonsillerin ve adenoidlerin cerrahi olarak çıkarılması veya pozitif basınçlı ventilasyon uygulaması %75 oranında enüreziste iyileşme ile sonuçlanır (62).

Enüretik olayların patofizyolojisi ile ilişkili gece ortaya çıkan obstruktif olaylar abdominal basıncın artmasına ve antidiüretik hormon ile atrial ve beyin natriüretik peptidlerinin seviyesini değiştirerek poliüri ve natriürezisle sonuçlanan sistemik kan basıncının artışına neden olur (60).

Sonuç olarak enürezisi olan tüm çocuklarda horlama, uyku apneleri ve huzursuz uyku gibi belirtiler sorgulanmalıdır (60).



Şekil 2: Uykuda düzensiz solunumun enürezise neden olma mekanizması (60)

2.3.4.5.Matürasyonda Gecikme

Nokturnal enürezisin en yaygın olarak kabul edilen sebebi, çocuğun geceleri idrar kesesinin boşalmasını inhibe edebilme kabiliyetini sağlayan santral sinir sisteminin fonksiyonel maturasyonunun gecikmesidir. Çocuklar büyüdükçe spontan iyileşme olması bunun kanıtıdır. Çocuğun idrar kesesi dolar ancak mesane duvarının gerilmesinden kaynaklanan duyusal ileti algılanamaz veya beyne ulaştırılamaz. Bu nedenle üriner sfinkter kasılması üzerinde etkili merkezi kortikal kontrol oluşmaz (63).

Enüretik çocukların dil ve motor becerilerinin gelişiminde de gecikme söz konusudur (64).

İngiltere'de EN'lı çocuklarla yapılan bir çalışmada gece kontinansı oluşumunda yer alan normal nörolojik yolların olgunlaşmasındaki gecikme nöropsikolojik bir test (Rey-Osterrieth Testi) kullanılarak incelenmiştir (65). Enüretik çocuklarda yapılan psikomotor testlerde zayıf görsel algılama ve motor yeteneklerde azalma saptanmıştır (66).

Enürezis nokturnalı çocuklarda düşük doğum ağırlığı, kısa boy, motor gelişmede gerilik ve ruhsal gelişme geriliği bulgularından olan uyumsuzluk, dikkatsizlik, korku ve anksiyete bulguları daha sık görülmüştür (67,68).

2.3.4.6. Psikososyal, kültürel ve sosyoekonomik faktörler

Çocuklarda enürezis ve psikopatoloji arasındaki komorbidite üzerine yapılan hemen hemen tüm çalışmalar, enüretik çocuklarda genel olarak davranışsal bozuklukların ve özellikle dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğunun artmış olduğunu göstermektedir. Enüreziste psikopatoloji; ileri yaş, erkek cinsiyet , düşük sosyoekonomik durum ile ilişkili görünmektedir (69). Yapılan bir çalışmada dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu (DEHB) olan çocukların çoğunda gece-gündüz mesane kontrolünün gecikmesinin yanı sıra barsak kontrolü de kontrol grubundaki çocuklara göre daha gecikmiştir (70).

Ayrıca çocuk popülasyonda enürezis prevelansı %15-20 olmakla birlikte DEHB olan çocuklarda enürezis insidansı 2.7 kat, gündüz enürezis insidansı 4.5 kat yüksektir. Enürezis çocuklarda sık görülen bir izolasyon nedenidir. Bu çocuklar gece yapılan sosyal etkinliklerden kaçınabilirler. Yatak ıslatma benlik saygısında kayıp ile çocuk ve aile için psikolojik stres gibi gerçek problemlere neden olabilir. Enürezis tedavisinin en önemli nedeni çocuğun utanç ile endişesini, ebeveynlerin yaşadığı hayal kırıklığını en aza indirmektir (71).

Hayatın 2-4. yılları arasındaki dönem gece mesane fonksiyonlarının kazanılmasında kritik bir dönem kabul edilmiş olup, bu dönemde akut ve kronik anksiyeteye yol açan faktörlerin devreye girmesiyle sekonder enürezis gelişebilir. Aileden ayrılma, anne/babadan birinin ölümü, bir kardeşin dünyaya gelmesi, yeni bir eve taşınma, aile içi geçimsizlik, çocuğa kötü muamelede bulunulması enürezisi kolaylaştıran en sık faktörlerdendir. Psikolojik bir nedene bağlanan EN'nın en belirgin örneği kardeş kıskançlığından kaynaklanmaktadır. Tuvalet eğitimini çoktan tamamlamış bir çocuk, bir kardeşin dünyaya gelmesinden kısa bir süre sonra altını ıslatmaya başlar. Bu davranış bebek gibi sevilme ve ilgi çekme amacına yönelik bir geriye dönüş davranışıdır. Genellikle kısa süren bu durum çocuğun gerçekten itildiği ve sevgiden mahrum bırakıldığı durumlarda uzayabilir (72).

İstanbul'da 6-16 yaş arası 1576 çocuk üzerinde yapılan bir çalışmada hem anne hem de babanın eğitim seviyesi düşüklüğünün monosemptomatik enürezis nokturna ile ilişkili olduğu bulundu. Monosemptomatik enürezis nokturna çalışmayan annelerin çocuklarında daha yaygın görülürken, diürnal enürezis

çalışmayan babaların çocuklarında daha sık görülmüştür. Ayrıca nokturnal enürezisin geniş aile ile de ilişkili olduğu bulunmuştur (34).

2.3.4.7. Beslenme ile ilgili faktörler

Birçok çalışmada bazı yiyecek ve içeceklerin, mesane semptomlarını ve nokturnal enurezisi şiddetlendirebilecek diüreze veya mesane irritabilitesinde artışa neden olabileceği gösterilmiştir (73). Gastrointestinal gıda allerjisi olan çocuklarda ekstraintestinal belirtilerin varlığını araştıran bir çalışmada katılımcıların %17,7'sinde yatak ıslatma görülmüştür (74). Yapılan başka çalışmada ise oligoantijenik diyet ile tedavi edilen migren veya hiperkinetik davranış bozukluğu olan 21 çocukta nokturnal veya diürnal enürezisin düzeldiği görülmüştür (75). Ayrıca enüretik çocuklara sıvı kısıtlaması yapılmadan günlük sıvı ihtiyacının gün boyunca sabahları %40, öğleden sonraları %40, akşamları %20 olacak şekilde bölünerek alınması önerilir (76).

Yüksek oranda kafein içeren içecekler, turunçgiller, fazla miktarda şeker alımı, yapay olarak renklendirilen yiyecek-içeceklerin tüketimi ve öğleden sonraları süt alımının EN'yı tetiklediği, bunların kısıtlanmasının faydalı olabileceği belirtilmiştir (77).

2.3.4.8. Tuvalet eğitimi

Bebeğin gelişimsel açıdan sfinkter tonusunu kontrol edebilmesinin mümkün olmadığı bir dönemde tuvalet alışkanlığının kazandırılmaya çalışılması enürezise yol açabilir. Bu konu genellikle titiz annelerin sorunu olarak karşımıza çıkar. Annenin bu konuda başarısız olması sorunun üstüne daha çok gitmesine ve bilinçsiz bir şekilde çocukta karşı gelme bozukluğunun oluşmasına neden olmaktadır. Bu durum, işeme disfonksiyonlu çocuklarda daha çok görülür. Tuvalet eğitimine, çocuğun sfinkter kontrolünün başladığı dönem olan 18 ay civarında başlanması daha uygundur. Bu dönemde çocuk uygun aralıklarla tuvalete götürülür ve tuvaletini uygun yerlere yapması sağlanır. Tuvalet eğitimine 2,5 yaşından sonra başlanması da enürezise neden olabilir (78).

Genellikle çocuğu her beslenmeden sonra birkaç dakikalığına lazımlığa oturtmak yeterlidir. Çocuklar yaşları ilerledikçe tuvaletlerinin geldiğini gösterebilirler ya da çeşitli hareketlerle bunu anlatmaya çalışırlar. Dikkatli olan anneler çocuğu lazımlığa oturtarak altının ıslanmasına engel olabilir (63).

Çocuk ilk olarak gündüz bezden ayırılarak takip edilmelidir. Daha önceki başarıları çocuğa hatırlatılarak uygun davranışın pekiştirilmesi hedeflenmelidir. Çocuk tuvaletinin geldiğini söylemeye başladığında geceleri de bezsiz yatırılabilir. Tuvalet eğitimine 20. ayından önce başlanan 6-8 yaş arasındaki çocuklarda enürezis oranı %5 iken, tuvalet eğitimine daha geç başlanan çocuklarda bu oran %20 saptanmıştır (79).

Ayrıca primer ve sekonder EN'lı hastaların karşılaştırıldığı kesitsel bir çalışmada kabızlığın, primer enürezis nokturnalı çocukların %75'inde, sekonder EN'lı çocukların ise %50'sinde gündüz altını ıslatmaya neden olduğu gösterilmiştir (80).

2.3.4.9. Ailesel ve genetik faktörler

Nokturnal enürezisteki genetik etkiler heterojen ve karmaşıktır. Von Gontard ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada enürezis etyolojisinde en önemli etkiye genetik faktörlerin sahip olduğu, ancak somatik, psikososyal ve çevresel faktörlerin de önemli modülatör etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. Ebeveynlerde enürezis öyküsünün olması, çocuklarda görülme ihtimalini arttırır. Ebeveynlerin birinde enürezis varsa çocuklarında görülme sıklığı %44, her ikisinde de enürezis öyküsü varsa çocuklarında görülme sıklığı %77'dir. Ebeveynlerinde enürezis öyküsü olmayan çocukların ise %15'inde enürezis ile karşılaşılır. En yaygın kalıtım formu yüksek penetrasyona (%90) sahip otozomal dominant olarak bulunmuştur. Bununla birlikte tüm vakaların üçte biri sporadiktir ve sporadik ile ailesel formlar arasındaki fark bilinmemektedir. Nokturnal enürezis ile ilişkili dört gen lokusu tanımlanmıştır. Bunlar 8, 12, 13 ve 22. kromozomlardadır fakat başka lokusların da var olduğu varsayılmaktadır (81).

Aile ve ikiz çalışmaları nokturnal enürezisin genetik bir arka planının olabileceğini göstermiştir. Bakwin ve arkadaşları her iki ebeveynin de enüretik

olduğu ailelerdeki çocuklarda nokturnal enürezis insidansının %77 oranında en yüksek değere sahip olduğunu göstermiştir (82).

İstanbul'da 5-13 yaş arası çocuklarda EN ve ilişkili faktörlerin sıklığının araştırıldığı 420 çocuk ile yapılan bir çalışmada da literatüre uygun şekilde çocukların %76,2'sinde annede, %14,7'sinde babada, %16,2'sinde kardeşlerde enürezis öyküsü olduğu saptanmıştır (84).

Ulman ve arkadaşları tarafından 1999 yılında yapılan bir çalışmaya göre ülkemizdeki enüretik çocuklar için aile öyküsü tipik bir özelliktir ve araştırma serisinde bu oran %76'dır. Ayrıca klinik gözlemlerde aile öyküsünün, enürezise yaklaşımı da etkileyen önemli bir faktör olduğu anlaşılmıştır. Ebeveynlerde enürezis öyküsü olduğu zaman, ailelerin çocuklardaki enürezisi fazla önemsemediği, geçmişte kendilerinde veya önceki çocuklarında olduğu gibi kendi kendine geçmesini bekledikleri ve bu yüzden başvuru yaşının geciktiği görülmüştür (85).

Rekombinant DNA teknikleri ile ilk kez 1995 yılında Eiberg ve arkadaşları 11 Danimarkalı ailenin 5'inde kromozom 13 üzerindeki markerlar arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir (83). Aynı kromozomal bölge 16 İsveçli ailenin 3'ünde saptanırken, bu 16 ailenin 6'sında kromozom 12 ile enürezis arasında bağlantı gösterilmiştir (82).

2.3.5. ENÜREZİSLİ HASTAYA YAKLAŞIM VE DEĞERLENDİRME

Enürezis nokturna kendiliğinden düzelme ile tüm mevcut tedavilere dirençli olma arasında klinik seyir gösteren bir durumdur (86).

Hikaye ve ayrıntılı fizik muayene bu durumu teşhis etmenin anahtarıdır. Gece enürezisinin değerlendirilmesindeki ilk adım hikayenin sorgulanmasıdır. Enürezisin sekonder veya primer olduğu, enürezis paterni yani haftanın kaç gecesi altına kaçırdığı ve gecedeki atak sayısı, akşamları sıvı ve kafein alımı belirlenmelidir. Aynı zamanda nokturnal poliüri, polidipsi, dizüri, aciliyet hissi, idrara çıkma sıklığı, gündüz inkontinansı, anormal idrar akışı ve kabızlık varlığını belirlemek önemlidir. Çocuğun gece boyunca değişken miktarlarda idrarını birden fazla kaçırması

durumunda aşırı aktif mesane ya da küçük mesane kapasitesi olduğu varsayılabilir. Ailede enürezis öyküsü de önemli sorular arasındadır (87).

Tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonu öyküsü, uyku bozuklukları, horlama veya uykuda solunum düzensizliği tanısı ile kronik ilaç kullanımı mutlaka sorgulanmalıdır. Çünkü bazı ilaçlar sekonder enürezis ile ilişkili olabilir (88).

Fizik muayenede karın, rektum, genitaller, kulak-burun-boğaz değerlendirilmelidir. Karın muayenesinde mesane distansiyonu kontrol edilmelidir. Genital muayenede sekonder veya kalıcı enürezise neden olabilecek cinsel istismarı işaret eden belirtiler tanımlanmalıdır (89). Kızlardaki labiyal adhezyonlar veya üretral anomaliler ile erkeklerdeki meatal anomaliler belirlenmelidir (87).

Büyüme tabloları yardımıyla genel büyümenin değerlendirilmesi kronik böbrek hastalığı veya obstruktif üropati nedeniyle ortaya çıkan büyüme geriliğini kontrol etmek için esastır. Enfeksiyon varlığı idrar ve idrar kültürü tetkiki ile tespit edilebilir. Sekonder enürezis hiperglisemi, üre-kreatinin yüksekliği ve TSH düşüklüğü durumlarında görülebilir (89).

Genel olarak ürodinamik çalışmalar gerekli değildir (89). Ancak ürodinamik çalışmalar aşırı detrusor aktivitesi olan hastalarda mesane duvar kalınlığının anlamlı bir şekilde yüksek olduğunu göstermiştir. Ayrıca monosemptomatik olmayan primer nokturnal enürezisli çocuklarda monosemptomatik primer nokturnal enürezisli çocuklara göre aşırı detrusor aktivitesi görülmüştür (90). Nadir olmasına rağmen özellikle tedaviye dirençli olgularda ektopik üreter olasılığı ekarte edilmelidir. Bu tür hastalarda kesin tanı koyma yöntemi görüntülemedir (91).

İdrar tahlilinin yanı sıra laboratuvar testleri genellikle gereksizdir. Çünkü idrar tetkiki diabetes insipitus durumunda idrar dansitesindeki değişikliği, diabetes mellitus durumunda glikozüriyi, enfeksiyon durumunda da nitrit, lökosit esteraz, lökosit veya bakteri varlığını gösterir (87). Monosemptomatik olmayan enürezis ve tedaviye yanıtsızlık durumunda postmiksiyonel rezidü idrar miktarının ölçülmesi de dahil olmak üzere böbrek ve mesane ultrasonu, idrar akış hızı ölçümü, ürodinamik çalışmalar ve anorektal manometri gibi ek çalışmalar yapmaya gerek görülebilir (87).

Gündüz fonksiyonel üriner inkontinansın sınıflandırılması daha kapsamlı ve karmaşıktır. ICCS'ye göre üç yaygın, altı nadir form belirlenmiştir. Aşırı aktif

mesane yani urge inkontinansta aciliyet semptomları veya sık idrara çıkma, günde yediden fazla işeme, işemede küçük idrar hacimleri ve idrar tutma manevraları görülür. İşemenin ertelenmesi ile olan üriner inkontinansta günde üç veya daha az işeme ve işemede büyük idrar hacimleri görülür. Yine idrar tutma manevraları vardır. Detrusor sfinkter diskoordinasyonu (disfonksiyonel işeme) durumunda ise işemenin başlatılmasında zorlanma ve kesik işeme vardır. Bu dış sfinkterin işeme sırasında gevşemediği durumdur. Nadir görülen formlardan stres inkontinansı, öksürme ve hapşırma ile karın içi basıncın artması sırasında küçük hacimlerle idrarın sızması ile karakterizedir. Çocuklarda yaygın değildir ancak ergenlikte ortaya çıkabilir. Zayıf mesane denilen durumda, mesane sadece karın bölgesine baskı uygulanarak tamamen boşaltılabilir. Vajinal reflüde kızlarda işeme sırasında vajina içerisine giren idrar, işemeden sonraki 5-10 dakika boyunca ıslanmaya neden olur. Gülme sonucu ortaya çıkan giggle (kıkırdama) inkontinansta büyük hacimlerde idrar çıkışı olur(92).

2.3.6. TEDAVİ

Terapötik sürecin temel üç aşaması şunları içerir: birincisi çocuğun idrar yapma şeklinin değerlendirilmesi, ikincisi mesane fonksiyon bozukluğunun tedavisi, üçüncüsü idrar yapmak için uyanmayı öğrenmektir (93). Enürezis tedavi metodları esas olarak davranışsal müdahaleleri, enürezis alarmını ve ilaçları içerir. Davranışsal müdahaleler; işeme düzeni ve sıklığı için önerileri, sıvı alımını sınırlama, ödüllendirme sistemleri, kabızlığın tedavisi, uyanma eğitimi ve mesane eğitimini kapsar (94).

Nokturnal enürezisi tedavi etmenin en önemli nedeni ailenin çocukta gözlemlediği huzursuzluğu, anksiyeteyi ve yıpranmayı en alt düzeye indirmektir. Tedavi çocuk ve ailenin kooperasyonu ve desteği ile mümkündür. Yapılan bir çalışmada yatak ıslatma ile başa çıkmak için ebeveynlerin %23-36 oranında ilk tedavi seçeneği olarak cezalandırma yöntemini seçtikleri görülmüştür. Cezalandırmanın tedavide kesinlikle yeri yoktur. Tedavide ilk basamak ebeveynleri problemin istem dışı, kendi kendini sınırlayan bir olay olduğuna ikna etmek ve çocuğun psikolojik gelişimini kötü yönde etkileyebilecek cezalandırıcı yöntemlerin önüne geçmektir (95).

Tedavide farmakolojik ve farmakolojik olmayan çeşitli seçenekler bulunmaktadır (95).

2.3.6.1. Farmakolojik Olmayan Tedaviler

2.3.6.1.1. Motivasyonel Tedavi

Tedavinin en önemli parçalarından biri pozitif motivasyondur. Çocuğun tedavide aktif rol alması için motivasyonu sağlanmalıdır. Tedavinin zamanı ve tipi bireyselleştirilmelidir. Çocuk ne kadar küçükse motivasyonu o kadar az olacaktır. Çocuk yeterince istekli değilse tedavi çocuk hazır oluncaya kadar ertelenmelidir (40).

Çocuğun tedavisine aktif katılımı ve sorumluluk alması (yatak çarşaflarının değiştirilmesine yardım gibi) ödüllendirilir. Duygusal içerikli ödüller (sevgi gösterme gibi), somut ödüllere (şeker, hediye) göre daha etkili bulunmuştur. Çocuk sabah uyanınca işeme takvimi doldurulur. Takvimdeki kuru günlerin sayısı için bir hedef konabilir ve bu hedefe ulaşınca ödüllendirilebilir. Islak gecelerin cezalandırılmaması önemlidir (26).

Motivasyon tedavisinin gerçek kür oranı bilinmemekte olup, %25 civarında olduğu tahmin edilmektedir. Ancak hastaların %70'inde belirgin düzelme görüldüğü bildirilmiştir (96).

2.3.6.1.2. Mesane Eğitimi

Mesane eğitimi, bilinçli olarak işeme aralıklarının uzatılmasıyla mesanenin gerilip genişlemesi ve fonksiyonel mesane kapasitesinin artması esasına dayanır. Bu şekilde sık tuvalete gitme alışkanlığının önüne geçilebilir. Bu sayede enürezis şikayeti olan çocuklar, gece uzun bir süre idrarlarını tutabilirler. Miksiyon aralıklarının istemli olarak arttırılmasıyla fonksiyonel mesane kapasitesinde artış sağlanabilir (97).

Fazladan sıvı alımı ile işemenin ertelenmesi mesane kapasitesini arttırmaya yönelik girişimlerdir. Aynı zamanda işeme sırasında idrarın aralıklı olarak tutulması pelvik taban kaslarını geliştirmeye ve sfinkter kontrolünü sağlamaya yardımcı olacağından önerilmiştir (98).

Altı aylık uygulamanın sonunda hastaların %35'inde tam kuruluk, %66'sında ise belirgin iyileşme bildirilmiştir. Ancak bu tip egzersizler ciddi gündüz semptomları olan çocuklarda uygulanmamalıdır. Vezikoüreteral reflüsü olan bir çocukta idrar tutma ile mesane basıncının arttırılması durumun daha da şiddetlenmesine neden olabilir (99). Tedaviye dirençli EN'sı olan 86 çocukla yapılan bir çalışmada mesane egzersizlerinin tek başına yeterli etkiye sahip olmadıkları ancak oksibutinin ile birlikte uygulanması durumunda başarılı olunabileceği söylenmiştir (100).

2.3.6.1.3. Alarm Tedavisi

Alarm tedavisi ilk olarak 1904 yılında Avusturalyalı pediatrist Meinhard von Pfaundler tarafından hastane servislerindeki ıslak yatakları ortaya çıkarmak için servis hemşirelerini uyaran bir sistem olarak geliştirilmiştir. Rutin kullanıma 1930'larda geçilmiştir (97).

Enürezis alarmı yatak ıslatmayı azaltmak için etkili bir önlemdir. Uyarılmaya koşullanarak çalışan bir davranış terapisi şeklidir. Bu yöntemde çocuğun pantolonuna takılan sensör ıslandığında çocuğu alarmla uyandırmaktadır. Böylece çocuk yavaş yavaş yatağı ıslatmadan önce uyanmayı öğrenir. 2005 yılında yapılan bir meta analiz çalışmasında alarm tedavisi kullanan çocukların yaklaşık üçte ikisinin tedavi süresince kuru kaldığı, neredeyse yarısının da tedavi bittikten sonra kuru kaldığı gösterilmiştir (101). Alarm cihazıyla tedavide gece uykuda altını ıslatma başlar başlamaz alarm devreye girer ve işeme sırasında uyanmayı sağlar. Çocuğun bu aşamada tamamen uyandırılıp işemeyi tuvalette tamamlaması önemlidir. Böylelikle mesane doluluğuna olan duyarlılığın şartlı bir refleks mekanizma ile arttırılarak mesane dolduğunda henüz idrar kaçırmadan çocuğun uyanması hedeflenmektedir (102). ICCS, çocukta tedavi etkinliğini en üst düzeyde görebilmek için alarm her çaldığında ebeveyn/bakıcının çocuğa eşlik etmesini önermektedir (103).

Alarm tedavisinde asıl amaç; yatak ıslatma sayısını azaltmak değil, tamamen kuruluk elde edebilmektir. Bu amaçla 1991 yılında Butter tarafından bir takip şekli tanımlanmıştır. Bu tanımlamaya göre başlangıç başarısı diyebilmek için 16 haftalık alarm tedavisi ile ard arda 14 kuru gece sağlanması gerekirken, bu dönem içinde iki

haftada iki gece yatağı ıslatma relaps olarak tanımlanmaktadır. Devamlı başarı diyebilmek için ise başlangıç başarısı sonrası 6 ay boyunca relaps görülmemesi, tam başarı diyebilek için ise 2 yıl boyunca hiç relaps olmaması gerekmektedir (104).

Monda ve arkadaşlarının 1995 senesinde yaptıkları bir çalışmada enüretik hastalar kontrol, alarm cihazı, imipramin ve desmopressin grubu olarak 4 gruba ayrılıp tedavi verilmiş ve izlenmiştir. Tedaviler 6. ve 12. ayda değerlendirildiğinde; kontrol grubunda 6. ayda başarı %6 iken 12. ayda %16 olarak saptanmıştır. Alarm cihazı grubunda bu oranlar 6. ayda %63, 12. ayda %56 bulunmuştur. İmipramin grubunda başarı oranının 6. ayda %36, 12. ayda %16 olduğu görülmüştür. Desmopressin grubunda ise bu oranlar sırasıyla %68 ve %10 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada desmopressin, imipramin ve alarm tedavisinin 6. aydaki başarı oranları birbirine yakın iken uzun dönemde yani 12. ayda başarı oranının alarm cihazı tedavisinde diğer gruplara göre yüksek olduğu görülmektedir. Ancak alarm tedavisinde yakalanan bu yüksek başarı oranları, ailenin ve çocuğun iyi motivasyonu ile tedaviye uyumuyla doğru orantılıdır (105).

2.3.6.2. Farmakolojik Tedaviler

2.3.6.2.1.Desmopressin

Desmopressin asetat, arjinin vazopressin (ADH-antidiüretik hormon) hormonunun sentetik bir analoğudur. Böbrek tübüllerinden suyun geri emilimini arttırarak idrar ozmolaritesini arttırır ve diürezi azaltır. Desmopressin enürezis için 1. basamak tedavi şeklidir. Bu tedavinin en iyi sonuçları nokturnal poliürili (nokturnal idrar üretiminin yaşa göre öngörülen mesane kapasitesinin %130'undan fazla olan), normal mesane depolama fonksiyonuna sahip (maksimum işenen hacmin yaşa göre öngörülen mesane kapasitesinin %70'inden fazla olan) ve yaşça daha büyük olan çocuklarda görülür (106).

Desmopressin intranazal sprey, oral tablet ve oral eriyik liyofilizat (melt) şeklinde verilebilir. Ancak intranazal desmopressinin pediatrik EN endikasyonu olası hiponatremi, nöbet ve ölüm riski nedeniyle FDA tarafından geri çekilmiştir (107). Desmopressin oral formu yatmadan bir saat önce ve akşam yemeğinden yaklaşık 2 saat sonra alınmalıdır. 0,1-0,2 mg'lık düşük bir dozla tedaviye başlanması ve

gerektiğinde hastanın kilosu ve yaşına göre değişkenlik göstermeksizin maksimum 0,6 mg/gün doza çıkılması önerilir. İlaç alınmadan bir saat önce hiponatremi ile su zehirlenmesi riskinden kaçınmak ve optimum idrar konsantrasyonunu elde etmek için sıvı alımı kesilmelidir. Maksimum etki için ilk tedavi iki-dört hafta sürdürülmeli ve kuru gece sayısında azalma olursa tedavi en az üç aya tamamlanmalıdır. Kuruluk sağlanması durumunda ilacın kesilmesi kademeli olarak yapılabilir, bu nüks oranını düşürmektedir. İlaç kesilmeye başlandıktan sonra semptomlarda kötüleşme olursa doz tekrar arttırılmalı ve tedaviye 3 ay daha devam edilmelidir (106).

Desmopressin melt formunun önerilen tedavi dozu ise 120-240 mikrogram/gündür. İlaç dozu hastanın kilosu ve yaşına göre değişkenlik göstermez. Yüksek doz ile tedaviye başlayıp kademeli olarak dozu azaltmak mümkün olduğu gibi, düşük doz ile tedaviye başlayıp, tedaviye yanıt alınamaması durumunda doz arttırımına gidilebilir (103).

Monosemptomatik nokturnal enürezisi (MNE) olan çocukların büyük bir kısmında, normal sirkadyen döngüde var olan nokturnal vazopressin artışı gözlenememektedir. Bunun sonucunda geceleri, idrar yeteri kadar konsantre edilememekte ve gündüze göre daha yüksek miktarda sudan zengin idrar üretilmektedir. Nokturnal idrar üretimi, mesanenin depolama kapasitesini aştığında da çocuk uyanamazsa enüretik ataklar yaşanmaktadır. Bu mekanizma, desmopressinin neden etkili bir ilaç olduğunu ortaya koymaktadır (108).

Tedavi şansını arttırma konusunda aralıklı tedavi protokolleri gündeme gelmiştir. Üç ay sürekli oral desmopressin tedavisi boyunca kuru kalıp, tedavi sonlandırıldıktan 2 hafta sonra tekrar enürezis görülen hastalara aralıklı (bir gün arayla) desmopressin tedavisinin önerildiği bir çalışmada 6 haftalık aralıklı tedavi sonrası 34 hastanın 15'inde tedaviye tam yanıt, 13'ünde ise kısmi yanıt alındığı görüldü. Aralıklı tedaviye yanıt vermeyen 6 hastanın ise günlük desmopressin tedavisine devam edildi. İlk 3 aylık tedavinin sonlandırılmasından sonra relapsı olan bazı enüretik hastalar için aralıklı desmopressin tedavisinin alternatif uzun vadeli bir tedavi olabileceği kanaatine varıldı (109).

Yapılandırılmış tedavi sonlandırma protokolleri de benzer şekilde olumlu enüretik etkinin sürekliliğini hedeflemiştir. Doz miktarı yerine doz sıklığının

kademeli olarak azaltıldığı yapılandırılmış tedavi sonlandırma protokolünün (ilk iki hafta boyunca 1 gün arayla, ikinci iki hafta boyunca haftada 2 kez ve sonrasında hasta tamamen kuru kalana kadar haftada 1 kez ilaç verilmesi) uygulandığı 181 merkezin dahil edildiği çok merkezli geniş kapsamlı bir çalışmada, çalışmaya katılan toplam 487 monosemptomatik enürezis nokturnalı hastanın 173'ünün desmopressin tedavisi aniden sonlandırıldı. Tedavisi ani sonlandırılan hastaların tedaviye %27 oranında kısmi, %44.1 oranında ise tam yanıt verdiği görüldü. Yapılandırılmış tedavi sonlandırma protokolünün uygulandığı 314 monosemptomatik enürezis nokturnalı hastanın ise %24'ünün tedaviye kısmi, % 66.8'inin tedaviye tam yanıt verdiği görüldü. Bu çalışmayla kür sağlanması açısından yapılandırılmış tedavi sonlandırma protokolünün, düzenli tedavinin aniden sonlandırılmasına göre daha üstün olduğu anlaşıldı (110).

2.3.6.2.2.Trisiklik Antidepresanlar

Trisiklik antidepresanlar (TCA) 1960'lardan bu yana enüresis nokturna tedavisinde kullanılmaktadırlar. Yapılan bir çok randomize çalışmada plasebodan daha etkili olduğu gösterilmiştir. Bu grupta en sık kullanılan ilaç imipramindir. Ancak amitriptilin, desipramin gibi ilaçlar da etkindir. %40-70 oranında etkinlikleri bildirilmiştir. Bu ilaçlar vazopresssin salınımını uyarırlar, REM uyku süresini kısaltırlar ve mesane detrüsör kasının gevşemesini sağlarlar (111).

İmipraminin tedavi dozu yatmadan önce 0,9-1,5 mg/kg'dır. 5-8 yaş arası çocuklarda yatmadan önce 25 mg, daha büyük çocuklarda 50 mg şeklinde uygulanmaktadır. 12 yaş ve üzeri çocuklarda ise 75 mg kullanılabilir. Uygun dozda 3 hafta boyunca kullanıldığı halde tedavi elde edilememişse ilaç kesilmelidir. Tedavi sonrası relaps oranı oldukça yüksektir hatta bir çalışmada %75 olduğu gösterilmiştir(111).

Trisiklik antidepresan olarak yan etkileri; ağız kuruluğu, bulantı, baş dönmesi, kilo alımı, dikkat dağınıklığı, konsantrasyon güçlüğü, kişilik değişimi, anksiyete, uyku bozukluğu, kabızlık ve kabus görmedir. Yüksek dozlarda ise kardiyak aritmi, ventriküler taşikardi, hipotansiyon, solunum komplikasyonları ve konvülsiyon görülebilir (95).

Tedaviye başlamadan önce uzun QT sendromu açısından tarama önerilmiştir. Ancak normal bir elektrokardiyogram, aritmi gelişme ihtimalini dışlamaz. Tedavi her üç ayda bir, 2 hafta ara verilecek şekilde planlanmalıdır (112).

İmipraminin doğrudan desmopressin ile karşılaştırıldığı 36 çocukla yapılan randomize kontrollü bir çalışmada, tedavi sırasında ve tedavi durdurulduktan sonra iki ilacın benzer etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle hangi ilacın daha iyi bir seçim olduğunu belirlemek için yan etkileri hakkındaki verilerin değerlendirilmesi önerilmiştir (113).

Trisiklik antidepresan ile antikolinerjik ajanın kombine tedavisinin etkisinin değerlendirilmesi için yapılan bir çalışmada 6-12 yaş arası PMEN'lı 22 çocuk 6 ay süre ile tedavi verilip ardından 3 ay süreyle takip edilmiştir. Takip döneminde hastaların %60'ında relaps meydana gelmiştir. Ancak kombine tedavinin etkinliği her iki ilaç için de tek başına bildirilenden daha fazla bulunmuştur (114).

2.3.6.2.3.Antikolinerjik İlaçlar

Antikolinerjik ilaçlar özellikle gecede ikiden fazla altına idrar kaçırması olanlara önerilmektedir. Gündüz semptomlarına eşlik eden gece azalmış mesane kapasitesi ve artmış detrusör aktivitesi olan desmopressine yanıtsız vakalarda etkili olabilmektedirler. Bu grupta en sık kullanılan ilaç oksibutinindir. Uygulamada 0,4 mg/kg dozunda, bölünmüş dozlar şeklinde verilmektedir. Antienüretik etki en geç 2 ay içinde ortaya çıkar ve tedaviye cevap %40 oranındadır. İlaç yan etkisi olarak ağız kuruluğu, yüzde kızarma, taşikardi, baş dönmesi, kabızlık ve mesanenin tam boşaltılamaması görülebilir (115).

2014 yılında oksibutinin ve desmopressinin etkinliği ve güvenliğini karşılaştırmak için 66 çocuk ile yapılan bir randomize kontrollü çalışmada desmopressinin oksibutinine kıyasla etkinlik bakımından daha üstün olduğu gösterildi. Yine bu çalışmada oksibutininin daha fazla yan etkiye sahip olduğu belirtildi (116). Yapılan başka bir çalışmada sadece desmopressin tedavisinin başarısız olduğu 28 PMEN'li hastada desmopressin ve oksibutinin kombinasyonunun hastaların %71'inde ıslak gece sayısında %50'nin üstünde azalma sağladığı bildirildi (117).

2.4. Enürezis ve Genetik

Enürezis ile ilgili yapılan çalışmaların çoğunda pozitif aile öyküsü ele alınmıştır. Anne, baba ve kardeşlerde enürezis hikayesi bu hastalarda sıklıkla karşılaşılan bir durumdur. Buna sebep olabilecek genetik varyasyonun araştırıldığı çalışmalar genetik varyasyonun olduğu vakalarda mesane kontrolünün gecikmiş olduğu fikrini desteklemektedir. Yapılan genetik çalışmalar kromozom 4p (D4S2960), 8q (D8S260, D8S257), 12q (D12S80, D12S43, D12S86), 13q (D13S291, D13S263) ve 22q (D22S446, D22S156, D22S257) ile nokturnal enürezis arasında ilişki olabileceğini göstermiştir (45).

Nokturnal enürezisin etyolojisi multifaktöriyel olmasına rağmen, muhtemelen insanlarda en sık görülen kalıtsal hastalıktır. Danimarkalı ve Hollandalı bir grup araştırmacı 1995'ten beri enürezis ile genomik bağlantıyı değerlendirirken 4 genomik lokus ile enürezis ilişkisini bildirmiştir. Bunları ENUR1 (13q), ENUR2 (12q), ENUR3 (22q) ve ENUR4 (8q) olarak adlandırmışlardır (118).

Eiberg ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 3 farklı genetik model ele alınmıştır. Esas olarak gece inkontinansına neden olan en olası genetik modelin kromozom 4p16.1 üzerinde yer aldığı gösterilmiştir. Dopamin reseptörleri DRD5 ve D1B kromozom 4p16 ile eşleşmektedir. Bu genler EN'dan sorumlu tutulabilinecek aday genlerdir (119).

Arnell ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada kromozom 2, 6, 12, 13q, 14, 20 ve 21'e karşılık gelen bölgeler incelenmiştir. 392 olgunun 168'inde (% 43) dominant geçiş, 37'sinde ise (%9,4) belirgin resesif kalıtım gözlenmiştir. Kromozom 12 üzerinde 12q13'de lokalize olan AQP2 geni primer nokturnal enürezis için aday gen olarak gösterilmiştir (120).

İngiltere'de Von Gontard ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, annede EN öyküsü olanlarda riskin 3,63 kat, babada EN öyküsü olanlarda ise riskin 1,85 kat arttığı gösterilmiştir (121). Ülkemizde Diyarbakır'da yapılan bir çalışmada EN'lı çocukların %64,8'inde aile öyküsü saptanmıştır. Çarman ve arkadaşlarının İstanbul'da 1309 çocukta yaptığı bir çalışmada ise çocukların %55,9'unda aile

öyküsü olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak ülkemizde yapılan farklı çalışmalarda aile öyküsünün farklı oranlarda pozitifliği bildirilmiştir (122).

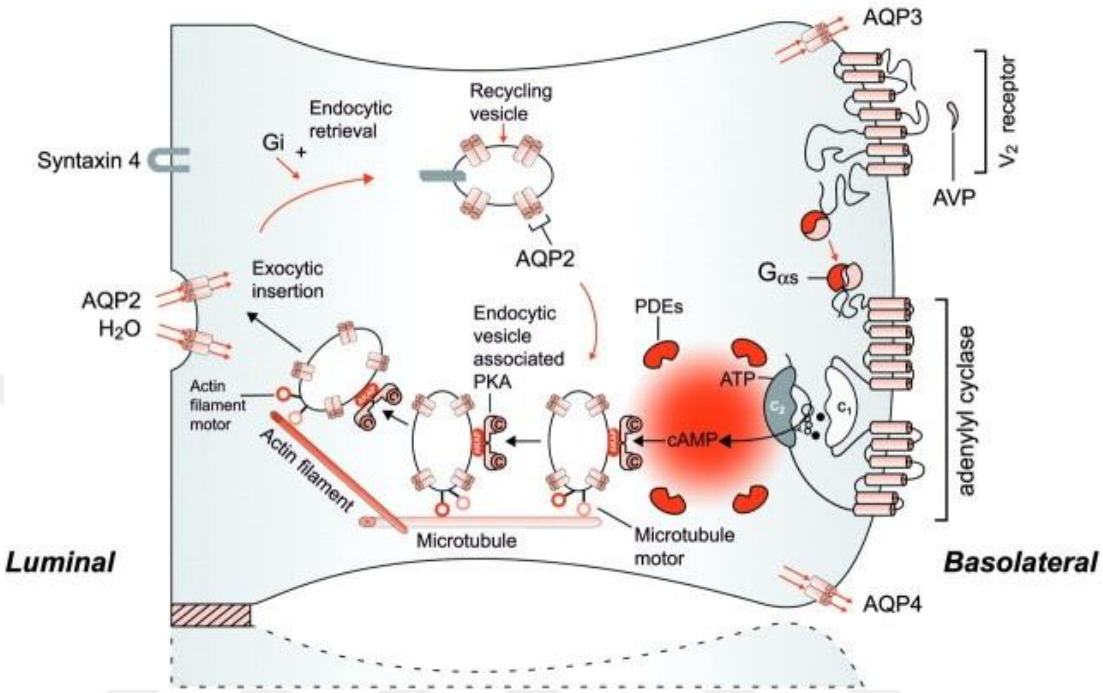
2.5. Akuaporin 2 (AQP 2) ve Arginin Vazopressin (AVP)

Akuaporinler birçok hücre tipinde sıvı transportunda rol oynayan, plazma membranlarında eksprese edilen küçük membran proteinleridir. Monomer boyutu 30 kDA kadardır (123). AQP1, AQP2, AQP3, AQP4, AQP6, AQP7 böbrek tübül epitelinin farklı tip ve farklı yerlerinde lokalize su kanallarıdır. AQP1; proksimal tübül, inen ince Henle kıvrımındaki epitel hücrelerinin apikal ve bazolateral membranında bulunur. AQP2; toplayıcı tübüllerin ana hücrelerinin apikal membranı ile hücre içi sitoplazmadaki veziküllerde bulunur. AQP3; toplayıcı tübüllerin ana hücrelerinin bazolateral membranında, AQP4 ise medulladaki toplayıcı tübüllerin bazolateral membranında bulunmaktadır. AQP6'nın kortekste ve muhtemelen medullada bulunduğu, AQP7'nin ise kortekste apikal membranlarda olduğu öne sürülmektedir (124).

AQP2 geni 12q13 kromozom bölgesinde bulunur ve 271 aminoasitli bir proteini kodlar (125). AQP2; böbrek toplayıcı kanallarında eksprese edilir ve vücut su dengesinin korunmasında önemli bir role sahiptir. AQP2, vazopressin reseptörü tip 2 (AVPR2) yoluyla etki gösteren ve işleyişi peptid yapıdaki arginin vazopressin (AVP) hormonu tarafından düzenlenen su kanalıdır. Bu nedenle AQP2 ve AVPR2'deki fonksiyon bozukluğu poliüriye neden olur. Hücreye tübüler lümenden AQP2 ile alınan su, bazolateral membrandan AQP3 ve AQP4 yoluyla plazmaya geçer. AQP2 geninde meydana gelebilecek bir mutasyon; AQP2'nin membrana yönelmesini engelleyebilir veya bir su kanalı olarak eksik fonksiyon göstermesi ile sonuçlanabilir (126).

Vazopressin reseptörü tip 2 geni Xq28 kromozomu bölgesinde bulunur. 3 ekzon ve 2 introndan oluşur. Bu gen böbrek toplayıcı kanal hücrelerinin bazolateral membranındaki vazopressin tip 2 reseptörlerini kodlar. Böbrek tübüllerinde AVPR2 aktivasyonu sonucu stimulan G proteini (Gs) aracılığıyla adenilat siklaz uyarılır. Böylece hücre içinde artan siklik AMP etkisi ile protein kinazlar aktive olur. Bu da

AQP2'lerin fosforile olarak hücrenin apikal membranına hareket etmesini sağlar (127) (Şekil 3)



Şekil 3: Böbrek toplayıcı kanal hücrelerinde AVP etki mekanizması (127)

Arginin vazopressin (AVP) geni kromozom 20p13 üzerinde bulunur (128). Bu gen 3 ekzondan oluşur. Ekzon 1, bir sinyal peptididir ve AVP ile nörofizin 2'nin terminal kısmı olan NH2'yi kodlar. Ekzon 2, nörofizin 2'nin merkezi bölgesini kodlar. Ekzon 3 ise nörofizin 2'nin diğer terminal ucundaki COOH'ı ve kopeptini kodlar. Pre-pro-AVP, anterior hipotalamusun supraoptik ve paraventriküler çekirdeklerinin magnosellüler nöronlarında sentezlenir, daha sonra taşıyıcı proteini nörofizin 2 ile birlikte nörosekretuar veziküller halinde paketlenir ve aksonal transport yoluyla nörohipofize taşınır (129). AVP'nin sentezi, transportu ve arka hipofizde depolanması sürecinin tümü 1-2 saat sürer ve yarı ömrü 10-35 dakikadır (130).

Vazopressin salınımının uyarılmasındaki en önemli neden beyinde bulunan osmoreseptörler tarafından algılanan plazma osmolalitesindeki artıştır. AVP; böbrekteki vazopressin reseptör tip 2'ye bağlanarak AQP 2'nin düzenlenmesi

yoluyla su geçirgenliğini arttırır ve su tutulumunu sağlar (131). Russel ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada AVP geninde meydana gelen mutasyon nedeniyle arginin vazopressin hormonunun salgılanmasının zayıfladığı gözlemlenmiştir (132).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Araştırmanın Tipi, Yeri ve Hastaların Seçimi

Bu çalışma Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Nefrolojisi Polikliniği'nde PMEN olarak değerlendirilen hastalar üzerinde yapılmış kesitsel ve genetik prospektif bir araştırmadır. Hasta ve yakınlarına, yaptığımız araştırma ile ilgili sözlü ve yazılı bilgi verildikten sonra, yazılı olarak sunulan bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu onaylayan gönüllüler çalışmaya dahil edilmiştir.

3.2.Araştırmaya Dahil Olma Kriterleri

Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Nefrolojisi Polikliniği'ne PMEN nedeniyle başvuran hastalar çalışmaya dahil edildi. 7-18 yaş arasında PMEN nedeniyle takip edilen 40 hasta ile aynı yaş ve cinsiyette sağlıklı 10 kontrol çalışmaya alındı. Hasta grubu için aşağıdakilerden en az bir tanesi pozitif olanlar çalışma dışı bırakıldı.

a) 7 yaşından küçük olanlar

b) 18 yaşından büyük olanlar

c) Sekonder enürezis nokturnalı hastalar

d) Monosemptomatik olmayan enürezis nokturnalı hastalar

e) Başvuru sırasında üriner sistem enfeksiyonu olan hastalar

f) Doğuştan ya da kazanılmış santral sinir sistemi defekti ve ürolojik anomalisi olan hastalar

g) Bilgilendirilmiş onam vermeyen hastalar

3.3.Araştırmanın Genel Planı

Çalışma için Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alındı (Etik kurul onay tarihi:15.05.2019 ve Onay numarası:2019/102). Araştırmamız BAP 2019.04.03.996 numaralı proje ile Düzce Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeler Birimi tarafından desteklenmiştir. Hasta ve yakınlarına yaptığımız araştırmanın konusu ve amacıyla ilgili sözel olarak bilgi verildikten sonra çalışmaya

dahil olmayı kabul eden katılımcı ve yakınlarından bilgilendirilmiş gönüllü olur formu ile onam alındı.

Çalışmaya dahil edilen hastaların yaşı, cinsiyeti, antropometrik bulguları, kardeş sayısı, ebeveynlerin eğitim durumları, haftada kaç kez uykuda altını ıslattığı, gündüz altını ıslatma olup olmadığı, bezden ayrıldığından beri kuru kaldığı dönem varlığı ve süresi, günlük idrara çıkma sıklığı, ani ve acil idrara çıkma ihtiyacı, ıkınarak işeme, kabızlık-kaka kaçırma durumu, akşamları artan sıvı alımı alışkanlığı, hiperaktivite gibi davranış problemi/başka psikolojik problem varlığı, daha önce bu şikayeti nedeniyle doktor başvurusu ve tedavi alıp almadığı, sürekli kullandığı ilaçları, bilinen mevcut hastalığı, ailedeki enürezis öyküsü, daha önce üriner sistem enfeksiyonu geçirip geçirmediği sorgulanarak anket formuna kaydedildi.

Çalışmaya dahil edilen 50 çocuğun çıplak ayak ve üzerinde giysi olmadan aç karna boş mesane durumunda olmasına dikkat edilerek boy ve vücut ağırlığı ölçümleri yapıldı. Ölçümler aynı kişi tarafından aynı tartı ve boy ölçer kullanılarak yapıldı. Vücut ağırlıkları ADE marka dijital tartı ile ölçülürken, boyları duvara monte olan Harpenden Stadiometresi ile ağırlık her iki ayağa eşit dağılmış pozisyonda ve baş arkaya dik yaslanmış şekilde ölçüldü. Yapılan ölçümler sonrasında her çocuğun vücut kitle indeksi (VKİ: Ağırlık/boy² (kg/m²) formülü ile) hesaplandı. Ayrıca vücut ağırlığı ve boy ölçümü verileri Neyzi standartlarına göre değerlendirilip persantilleri belirlendi.

Tam kan sayımı testi laboratuvarımızdaki BECKMAN COULTER LH780 cihazı ile çalışıldı. Na, K, Cl, glukoz, üre, kan üre azotu (BUN), kreatinin değerleri laboratuvarımızdaki BECKMAN COULTER AU680 cihazı ile çalışıldı.

Tam idrar tetkiki laboratuvarımızdaki DIRUI FUS 200 cihazı ile çalışıldı. İdrar kültürü için kanlı ve Eosin-methylene-blue (EMB) besiyerine ekimi yapıldı.

Üriner sistem ultrasonagrafisi GENERAL ELECTRIC LOGIQ S8 cihazı kullanılarak yapıldı.

Çalışmaya dahil edilen hastalardan genetik analiz için ekstra kan alınmadı. Rutin amaçlı alınan kanlardan arda kalan atık kanlar kullanıldı. Atık kanlardan 2'şer cc, EDTA'lı (Etilenediaminetetraasetik asit) tüpe kan örnekleri alındı. Örnekler, örnek toplama işlemi bitinceye kadar -20°C'de muhafaza edildi.

3.4.Genetik Çalışmalar

Genetik çalışma için çalışmaya katılan tüm bireylerin periferik kan örneklerinden DNA izolasyonu yapıldı. İzole edilen DNA örneklerinden hedeflenen gen bölgeleri, bu bölgelere spesifik olarak tasarlanan primerler kullanılarak çoğaltıldı ve ardından saflaştırma işlemi yapılıp hedefe yönelik yeni nesil dizi analizi (NGS) yöntemiyle bu bölgelerin moleküler genetik çalışması yapıldı. Yapılan işlemlerin detayları aşağıda anlatılmıştır.

3.4.1. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

Dizisi bilinen bir DNA bölgesinin in vitro olarak çoğaltılmasını sağlayan ve kısa bir süre içerisinde DNA molekülünün milyonlarca hatta milyarlarca kopyasını elde etmeye yarayan bir yöntemdir.

Nükleik asit dizilerinin canlı dışında, kolay bulunabilen bir ekipman ile kısa zamanda ve fazla miktarda çoğaltılmasına olanak sağlayan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) keşfiyle bir çok uygulamanın önü açılmıştır. Moleküler genetik için devrim sayılabilecek buluşlardan biri olan PCR, DNA'nın üstel olarak artmasını sağlar. Teorik olarak sadece 20 döngüde 1 milyon kez çoğalma sağlanabilir. Ayrıca ısıya dayanıklı DNA polimeraz enziminin kullanılması da PCR için otomasyonun kolaylıkla uygulanmasını sağlamıştır.

PCR yöntemi, çoğaltılması (replikasyon) istenen DNA veya RNA'nın bir tüp içerisine gereken diğer maddelerle birlikte konularak üç farklı ısıda, bir döngü içerisinde tutulmasına ve bu döngülerin belirli sayıda tekrarlanması esasına dayanır.

İşlem sırasında ortama konan Thermus aquaticus (Taq) polimerazı veya bundan başka ısıya dayanıklı polimerazlar, uygun sentez sıcaklığı olarak kabul edilen 72-74°C'de hedef DNA'ya yapışmış primerlerin 3' ucundan başlayarak istenen DNA bölgesinin kopyasını sentezler. Bu tekrarlayan sentezleme işlemi sonunda çok yüksek yoğunluğa ulaşan hedef DNA/RNA molekülü, PCR sonrası agaroz jel elektroforezi gibi bir yöntemle gösterilebilir.

Polimeraz zincir reaksiyonu siklusunun ilk aşamasında DNA'nın sarmal iki zinciri yüksek sıcaklıkta birbirinden ayrılır (denatürasyon). Amplifiye edilecek olan kalıp DNA başlangıçta 95-100 °C'ye kadar ısıtılır ve sonra çift iplikçikli DNA, iki adet tek iplikçiğe bölünmüş olur.

Primerler 15-30 bazlık oligonükleotidlerdir. İkinci aşamada sıcaklığın 50 °C'ye düşürülmesi ile primerler tek iplikçik halindeki kalıp DNA'ya spesifik olarak bağlanırlar (annealing). Primerlerden biri kendine ait 5' ucu ile hedef DNA'lardan birinin 3' ucuna bağlanırken, diğer primerler de ikinci tek iplikçik DNA'nın anti paralel olarak diğer ucunda bulunan 3' ucuna bağlanarak, DNA polimerazın çalışma yönüne uygun olarak (5'-3') bağlanmış olurlar. Üçüncü aşamada 72-74 °C'de sentez veya zincir uzaması aşaması (polimerizasyon) olur. Primerlerle sınırlandırılmış olan bölgenin taq polimeraz enzimi ile amplifikasyonu meydana gelir. Yeni şekillenmiş olan sarmal, orijinal hedef DNA'dan denatürasyon yolu ile ayrılır. Bu üç basamak bir siklus anlamına gelmektedir ve her özgül DNA parçası kopyalanarak iki katına çıkarılmış olur. Sonradan yeni sentezlenen DNA da bir sonraki siklusta kalıp olarak kullanılır ve böylece bu DNA parçaları logaritmik (üssel) bir artış gösterir. Burada önemli olan çalışılacak DNA parçasının her iki ucunun nükleotid diziliminin bilinmesidir. Çünkü bu bilgi, ilgilenilen DNA parçasının her iki ucu için primer geliştirilmesini zorunlu kılar. Primerler oluşturulduktan sonra iki uç arasındaki bölüm PCR kullanılarak çoğaltılabilir.

Denatürasyon ve uzama aşamalarındaki ısılar değişiklik göstermezken, istenen DNA/RNA dizisindeki AT/GC içeriğine göre bağlanma ısısı değişkenlik gösterir. Bu üç aşama yaklaşık olarak 30-45 döngü kadar devam eder, bunun sonucunda hedef DNA/RNA parçasının milyonlarca kopyası meydana gelir.

PCR için gerekli olanlar: DNA/RNA örneği, bir çift sentetik primer, DNA polimeraz enzimi, nükleotid bazlar (A,T,G,C), uygun pH ve iyon koşullarını sağlayan tampon karışımıdır.

3.4.2.DNA izolasyonu

Hastaya ait EDTA'lı periferik kan örneğinden spin kolon yöntemi ile DNA izole edildi. DNA izolasyonu için Alfagen Kandan DNA izolasyon kiti kullanıldı. DNA izolasyonu amacıyla geliştirilmiş bu kit için uygulanan basamaklar aşağıdaki gibidir:

1. 1,5 ml'lik tüp içerisine 100 µl tam kan eklendi.
2. 37 ºC'de 30 dakika inkübe edildi.

3. 180 µl Tissue Lysis Buffer (REAL-E22) ve 20 µl proteinaz K (20 mg / ml) eklendi.
4. 55 ºC'de 30 dakika inkübe edildi.
5. 200 µl Lysis / Binding Buffer (REAL-REA01) eklendi.
6. 70 ºC'de 10 dakika daha inkübe edildi.
7. 300 µl saf izopropanol (MP Biomedicals -No: 19400690) eklendi.
8. Karışım toplama tüpü (REAL-R30) içerisine yerleştirilen kolon (REAL-RSC01) içerisine eklendi.
9. 8000 rpm'de 60 saniye çevrildi (Eppendorf–Centrifuge 5415R).
10. Toplama tüpü atıldı, kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.
11. 500 µl Disinhibition Buffer (REAL-REA03) eklendi.
12. 8.000 rpm'de 60 saniye çevrildi (Eppendorf – Centrifuge 5415R). Toplama tüpü atık kabına boşaltıldı.
13. 500 µl Wash Buffer (REAL-REA04) eklendi.
14. 8.000 rpm'de 60 saniye çevrildi (Eppendorf – Centrifuge 5415R). Toplama tüpü atık kabına boşaltıldı.
15. 13. ve 14. basamaklar tekrarlandı.
16. En yüksek hızda 90 saniye çevrildi (Eppendorf – Centrifuge 5415R). Toplama tüpü atılarak kolon 1,5 ml'lik steril tüpe yerleştirildi.
17. 70ºC'ye ısıtılmış 10 µl Elution Buffer (REAL-REA05) kolona eklendi. 70ºC'de 60 saniye inkübe edildi.
18. En yüksek hızda 90 saniye çevrildi (Eppendorf–Centrifuge 5415R).
19. 17. ve 18. basamaklar iki defa tekrar edildi.
20. Kolon atıldı. 1,5 ml'lik tüpte izole edilen DNA vardır.

3.4.3.Primerlerin tasarımı

Çalışmaya dahil olan bireylerde AQP2 ve AVP genlerinin yeni nesil dizi analizi yapılacağından, bu genlere özgü ileri ve geri primerlerin tasarımında "PRIMER© – Primer Designer v.2.0 (Scientific & Educational Software)" yazılımı kullanılarak primer sentezi yapıldı.

3.4.4.Çalışma stratejisi

Illumina-MISEQ yeni nesil dizileme cihazında havuzlama yöntemi ile DNA'lar eşit oranda karıştırılarak değerlendirildi, mutasyon olan ekzonlar yeni nesil dizileme tekniği kullanılarak her bir hasta için ayrı ayrı değerlendirildi.

3.4.5. PCR optimizasyonu

Hedeflenen gen bölgelerinin amplifikasyonları PCR reaksiyon miksleri kullanılarak yapıldı. PCR reaksiyon miks içeriği aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 1: PCR reaksiyon miks içeriği

İçerik	**Her bir reaksiyon için miktar (µl)**
Kalıp DNA (20-50 ng/µl)	2
dH_20	15
5x Tampon ($MgCl_2$'li)	5
dNTP karışımı, her biri 10mM (ThermoFisherScientificInc.)	0,5
İleri Primer (5 µM)	1
Geri Primer (5 µM)	1
Phire II Taq DNA Polymerase (Thermo Fisher Scientific Inc.)	0,5
Toplam miktar	25

PCR reaksiyonu için hazırlanan bu karışım PCR tüplerine konularak T100 (BioradInc.) termal döngü cihazlarına yerleştirildi ve aşağıdaki protokol uygulanarak amplifikasyon işlemi yapıldı.

Tablo 2: Yapılacak PCR işlemi için belirlenen döngüleri ve sürelerini gösteren protokol

Sıcaklık (°C)	Süre (saniye)	Döngü sayısı
95	60	1
95	10	
60	10	45
72	20	
72	60	1
4	sınırsız	1

3.4.6. Yeni nesil dizi analizi (Next-Generation sequencing) (NGS)

Yeni nesil dizi analizi yöntemi, DNA'nın bir çok enzimatik reaksiyon sonucunda parçalara ayrılarak çok sayıda DNA parçasıyla bir kütüphane oluşturulması ve ardından bu DNA parçalarının çoğaltılması esasına dayanmaktadır. Online Mendelian Inheritance in Man tarafından yapılan araştırmalara göre günümüzde 6000'den fazla tek gen hastalığı bulunmaktadır. Daha da önemlisi bu hastalıkların yaklaşık %70 kadarının moleküler temeli bilinmemektedir. NGS yönteminin kullanılmasıyla birçok hastalığın moleküler temelinin anlaşılması konusunda büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. NGS teknolojileri ile tüm genom ve tüm ekzom dizilenmesinin yanı sıra hedefe yönelik olarak oluşturulan NGS panelleri ile etyolojisi genetik heterojenite gösteren hastalıklar için çok sayıda gen aynı anda dizilenebilinmektedir.

Hastalığa sebep olan genetik patolojinin ortaya konmasıyla hastalara daha doğru genetik danışmanlık verilebilmekte, risk faktörü olan bireyler hızlı bir şekilde taranabilmektedir. Ayrıca gelecekte yapılacak genetik araştırmalar neticesinde hatalı genlerin fonksiyonlarının yeniden düzenlenmesi veya gen aktarımı yoluyla bu genlerin sağlıklı olanlarıyla değiştirilmesi sonucu hastalarda kalıcı tedavi sağlanacağı öngörülmektedir.

3.5. Çalışma Prensibi

NGS yönteminin temeli DNA'nın enzimatik reaksiyonlar sonucunda parçalara ayrılarak çok sayıda DNA parçasıyla bir kütüphane oluşturulması ve sonrasında bu DNA parçalarının çoğaltılmasına dayanmaktadır. Milyonlarca küçük DNA parçasının paralel sekanslama ile eş zamanlı olarak dizilenmesini sağlamakta; böylece genomdaki her bir bazın birden çok kez okunması mümkün olmakta ve varyasyonlar daha doğru bir biçimde saptanabilmektedir. Kabaca ; çalışma yapılacak biyolojik materyalin temini, temin edilen biyolojik materyalden genomik DNA izolasyonu, izole edilen DNA'daki hedef bölgelerin seçilmesi, DNA'nın enzimatik reaksiyonla kesilerek DNA kütüphanesinin oluşturulması, kütüphaneyi oluşturan DNA parçalarının çoğaltılması, DNA parçalarının dizilenmesi, dizileme sonrası ham verinin oluşturulması, kaynak dizi üzerine haritalama, olası değişimlerin tanımlanarak yorumlanması, sanger dizileme veya NGS ile doğrulama ve segregasyon analizi, aday patojenik değişimlerin belirlenmesi ve elde edilen bu verilerin raporlanması basamaklarını içerir.

Bu çalışmada ise Illumina miseq platformu kullanıldı ve hedefe yönelik dizileme (Targeted resequencing) yöntemi uygulandı. Bu yöntem için önce tasarlanan primer ile dizilenecek bölgeler çoğaltıldı, sonrasında barkodlanarak dizilendi.

Yeni nesil dizileme (NGS) testi için kütüphane hazırlığında "illumina TruSeq DNA library prep kit" kullanıldı. Dizileme sonrası elde edilen ham okumaların kalite kontrolü FastQC yazılım aracı (v0.11.5) kullanılarak yapıldı. Düşük kaliteli okumaların (phred skor < 20) ve adaptör kontaminasyonunun ortadan kaldırılması için Trimmomatic (v0.35) yazılım aracı kullanıldı. BWA (Burrows-Wheeler Alignment Tool) ile okumalar hg19 referans insan genomuna hizalandı. Picard ile dublike okumalar temizlendi ve BAM (Binary Alignment Mapping) dosyası oluşturuldu. IGV (Integrative Genomics Viewer) ile BAM dosyaları görüntülenerek ilgili varyasyonlar görsel olarak kontrol edildi. GATK (Genome Analysis Toolkit) analiz araçları ile SNP ve indel varyasyonlar belirlendi ve VCF (Variant Calling Format) dosyası oluşturuldu. Elde edilen VCF dosyasındaki varyasyonların annotasyonu için Illumina BaseSpace Variant Interpreter analiz platformu, InterVar, Franklin, VarSome, ClinVar, OMIM, Pubmed veri tabanları kullanıldı.

3.6. İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen veriler bilgisayar ortamında SPSS 17.0 (SPSS, Inc., Chicago, Illinois, USA) istatistik programı kullanılarak değerlendirildi. Araştırmanın tüm verileri için ilk olarak tanımlayıcı istatistikler uygulandı. Ölçümle elde edilen değişkenler için ortalama ve standart sapma şeklinde tanımlayıcı veriler hesaplandı. Başlangıç olarak verilerin normal dağılıma uygunluğunu belirlemek için Shapiro-Wilk testi yapıldı. Bu test sonucunda verilerin normal dağılım göstermediği ($p<0,05$) tespit edildi. Bu nedenle sonraki aşamada istatistiksel analiz için non-parametrik testlerin yapılması planlandı. Bunun için ikili kıyaslamalarda Mann-Whitney U testi, ikiden fazla kıyaslamalarda ise Kruskal–Wallis testi kullanıldı. İki grup arasındaki ilişki ise korelasyon testi ile değerlendirildi. İsimsel/dereceli iki kategorik değişken arasındaki ilişki çapraz tablo (Cross Tab) analizi ile hesaplandı. Elde edilen 0,05'ten küçük p değerleri anlamlı kabul edildi. Sonuçlar ortalama ± standart sapma şeklinde gösterildi. Gruplar arasında anlamlı fark tespit edilen değişkenler için lojistik regresyon analizi yapılarak risk oranları (Odds Ratio-OR) ve bu değerlerin % 95 güven aralıkları (%95 Confidence interval-CI) hesaplandı. Tüm testlerde istatistiksel anlamlılık düzeyi (p değeri) 0,05 olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Primer monosemptomatik enürezis nokturna (PMEN) tanısı alan 40 hastanın 23'ü kız (%57,5), 17'si ise erkek (%42,5) idi. Kız/erkek oranı 1,35/1 olarak hesaplandı. Kontrol grubundaki 10 hastanın 5'i kız (%50), 5'i erkek (%50) idi. Kız/erkek oranı 1/1 olarak hesaplandı. Cinsiyet açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p=0,666).

Hasta grubunda 11 (%27,5) hasta haftada 3 kez altına kaçırırken, 4 (%10) hasta haftada 4 kez, 6 (%15) hasta haftada 5 kez, 9 (%22,5) hasta haftada 6 kez, 10 (%25) hastada ise haftada 7 kez altına kaçırma vardı. Hasta grubunda 22 (%55) hastada akşamları artan sıvı alımı varken, 18 (%45) hastada yoktu.

Çalışmaya 40 PMEN'lı çocuktan oluşan hasta grubu (%80) ile 10 sağlıklı çocuktan oluşan kontrol grubu (%20) olacak şekilde 2 grup dahil edildi. PMEN'lı hastaların başvuru yaşı, vücut ağırlığı, boyu ve vücut-kitle indeksleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak farklılık gözlenmedi (p>0,05). PMEN'lı grupta vücut ağırlığı persantili (67,9±28,830) kontrol grubunun vücut ağırlığı persantiline göre (39,6±22,382) anlamlı derecede yüksekti (p=0,008). Yine PMEN'lı grupta boy persantili (59,70±26,993) kontrol grubunun boy persantiline gore (39,3±21,78) anlamlı derecede yüksek bulundu (p=0,029). PMEN'lı grupta lökosit değeri (8,210±2,417) kontrol grubuna (11,090±4,118) göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede düşüktü (p=0,039). Hemoglobin, ortalama eritrosit hacmi (MCV), platelet sayısı (PLT) ve ortalama trombosit hacmi (MPV) değerleri açısından iki grup arasında anlamlı bir fark yoktu (p>0,05).

Biyokimyasal parametreler incelendiğinde üre değeri PMEN'lı çocuklarda ortalama 24,859±6,492 iken kontrol grubunda 31,346±8,560 idi. PMEN'lı çocuklarda üre değeri normal sınırlar içerisinde olmakla birlikte kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük izlendi (p=0,029). Kan üre azotu (BUN) değeri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu (p=0,077). Kreatinin değeri PMEN'lı grupta 0,431±0,081 iken kontrol grubunda 0,504±0,074 idi. Kreatinin değeri normal sınırlarda kabul edilmekle birlikte PMEN'li grupta istatistiksel açıdan anlamlı derecede düşüktü (p=0,008).

Elektrolit değerleri incelendiğinde potasyum açısından gruplar arasında fark görülmezken sodyum ve klor değerleri normal aralıkta olmakla birlikte PMEN'lı grupta, kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti (sırasıyla p=0,052 ve p=0,009). Sodyum PMEN'lı grupta 139,178±1,602 mEq/lt iken kontrol grubunda 136,81±3,196 mEq/lt idi. Klor ise PMEN'lı grupta 104,3±1,545 mEq/lt iken kontrol grubunda 102,31±2,932 mEq/lt saptandı (Tablo 3).

Tablo 3: Hasta ve kontrol grubunun yaş, antropometrik ve laboratuvar bulguları

	Hasta Grubu Ortalama±SD (Min-Max)	**Kontrol Grubu Ortalama±SD (Min-Max)**	**Z**	**P**
Yaş (ay)	120,475±25,486 (84;178)	125,3±28,343 (90;174)	-0,546	0,585
Vücut Ağırlığı (kg)	41,100±15,492 (20,60;85)	34,370±10,521 (23,6;52,8)	-1,201	0,230
Boy (cm)	140,9±13,243 (120;168)	139,10±13,683 (124;161)	-0,425	0,671
Vücut Ağırlığı (Persantil)	67,9±28,830 (12;99)	39,6±22,382 (10;87)	-2,646	**0,008***
Boy (Persantil)	59,70±26,993 (11;99)	39,3±21,78 (10;77)	-2.184	**0,029***
VKİ(kg/m^2)	20,041±4,560(12,19-31,99)	17,347±1,936(14,99-20,62)	-1,795	0,073
Lökosit (bin/uL)	8,210±2,417 (4,40;12,70)	11,090±4,118 (4,30;17)	-2,062	**0,039***
Hemoglobin (g/dL)	12,855±0,929 (10,70;14,60)	12,91±1,062 (11,50;15,50)	-0,352	0,725
MCV (fL)	81,278±3,915 (72,30;89,40)	78,246±3,396 (78,70;88,70)	-0,667	0,505
Platelet (bin/uL)	325,2±65,114(230;527)	314,2±78,885 (223;423)	-0,679	0,497
MPV (fL)	7,985±0,713(6,6-10,4)	7,87±0,967 (6,5-9,5)	-0,547	0,584
Üre (mg/dL)	24,859±6,492 (15,26;40,13)	31,346±8,560 (19,40;50,49)	-2,183	**0,029***
BUN (mg/dL)	12,609±4,270 (7,27;29,51)	14,925±4,076 (9,24;24,04)	-1,771	0,077
Kreatinin (mg/dL)	0,431±0,081 (0,3;0,68)	0,504±0,074 (0,34;0,58)	-2,659	**0,008***
Sodyum (mmol/L)	139,178±1,602 (135,3;142,1)	136,81±3,196 (131,9;141,3)	-1,942	**0,052***
Potasyum (mmol/L)	4,339±0,283 (3,93;4,94)	4,292±0,533 (3,70;5,06)	-0,813	0,416
Klor (mmol/L)	104,3±1,545 (100,1; 107,3)	102,31±2,932 (98,8;108,6)	-2,597	**0,009***
Glukoz (mg/dL)	92,753±12,104(65,1-129,9)	103,66±19,159(83,2-147,8)	-1,710	0,087
İdrar dansite	1019,7±7,321(1003;1036)	1023,4±9,524 (1005;1035)	-1,385	0,166
idrar pH	5,875 ± 0,860(5; 7,5)	6,3±0,888 (5;7,5)	-1,366	0,172

VKI:Vücut kitle indeksi **MCV:** Mean Corpuscular Volume **MPV:** Mean Platelet Volume
BUN: Blood Urea Nitrogen **Min-Max:** Minimum-Maximum **SD:** Standard deviation **fL**: Femtolitre
uL: Mikrolitre **mg:**Miligram **dL:**Desilitre

Hasta ve kontrol gruplarında enürezis nokturna aile öyküsü açısından değerlendirildiğinde hasta grubunda 3 (%7,5) hastada annede, 2 (%5) hastada anne-baba ve kardeşte, 2 (%5) hastada anne ve kardeşte, 10 (%25) hastada babada, 3

(%7,5) hastada baba ve kardeşte, 3 (%7,5) hastada sadece kardeşte enürezis öyküsü varken 17 (%42,5) hastada ailede enürezis öyküsü yoktu. Kontrol grubunda ise 1 (%10) çocukta annede, 1 (%10) çocukta anne ve kardeşte enürezis öyküsü varken 8 (%80) çocukta aile öyküsünde enürezis yoktu ($\chi 2$=4,500; p=0,034) (Tablo 5). Buna göre birinci derece akrabada enürezis olan çocuklarda enürezis gelişme riski, öykü olmayana göre 1,353 kat daha fazladır (OD:1,353; CI:1,010-1,813).

Tablo 4: Hasta ve kontrol grubunda enürezis nokturna öyküsü dağılımı

Ailede EN Öyküsü	**Hasta Grubu (n=40)**	**Kontrol Grubu(n=10)**
Annede	3(%7,5)	1(%10)
Anne, baba ve kardeşte	2(%5)	-
Anne ve kardeşte	2(%5)	1(%10)
Babada	10(%25)	-
Baba ve kardeşte	3(%7,5)	-
Kardeşte	3(%7,5)	-
Yok	17(%42,5)	8(%80)
2.Derece akrabada	30(%75)	2(%20)

Hasta ve kontrol gruplarının demografik özellikleri ve ikinci derece akrabada enürezis öyküsü incelendiğinde ikinci derece akrabalarda (amca, hala, dayı, teyze) enürezis olup olmadığına göre kıyaslama yapıldığında hasta grubunda 30 (%75) hastanın akrabasında enürezis öyküsü varken, kontrol grubunda 2 (%20) çocuğun akrabasında enürezis öyküsü vardı ($\chi 2$=10,503; p=0,001) (Tablo 5). Buna göre ikinci derece akrabada enürezis olan çocuklarda enürezis gelişme riski, öykü olmayana göre 1,688 kat daha fazladır (OD:1,688; CI:1,106-2,575).

Hasta grubunda 25 (% 62,5) çocuk uykudan uyandırılmakta güçlük yaşarken, 15'i (%37,5) yaşamıyordu (Tablo 5).

Tablo 5. Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri ile birinci ve ikinci derece akrabada enürezis öyküsü dağılımı

		Hasta Grubu(%)	Kontrol Grubu(%)	χ^2	P
Cinsiyet	**Kız**	23 (%57,5)	5 (%50)	0,183	0,666
	Erkek	17(%42,5)	5 (%50)		
Anne Eğitim Durumu	**Okur yazar değil**	1(%2,5)	0(%0)	2,654	0,448
	İlk-orta okul	24(%60)	5(%50)		
	Lise ve dengi	11(%27,5)	5(%50)		
	Üniversite ve üzeri	4(%10)	0(%0)		
Baba Eğitim Durumu	**Okur yazar değil**	0(%0)	0(%0)	2,240	0,326
	İlk-orta okul	20(%50)	3(%30)		
	Lise ve dengi	15(%37,5)	4(%40)		
	Üniversite ve üzeri	5(%12,5)	3(%30)		
Uyurken Altına Kaçırma	**Evet**	40(%100)	0(%0)	50,000	**0,000***
	Hayır	0(%0)	10(%100)		
Birinci Derece Akrabada Enürezis Öyküsü	**Var**	23 (%57,5)	2 (%20)	4,500	**0,034***
	Yok	17 (%42,5)	8 (%80)		
İkinci Derece Akrabada Enürezis Öyküsü	**Var**	30 (%75)	2 (%20)	10,503	**0,001***
	Yok	10 (%25)	8 (%80)		
Uykudan Uyandırılmakta Güçlük	**Var**	25 (%62,5)	0 (%0)	50,000	**0,000***
	Yok	15 (%37,5)	10 (%100)		

Hasta ve kontrol gruplarındaki AQP2 ve AVP genlerindeki genetik varyasyonlar incelendiğinde hasta ve kontrol grubunda saptanan AQP2 ve AVP genlerindeki genetik değişimler Tablo 6'da gösterilmiştir. PMEN'lı çocukların 16'sında (%40) AQP2 ekzon 1'de, 38'inde (%95) ekzon 2'de, 36'sında (%90) ekzon 4'te genetik varyasyon saptanmıştır. AQP2 ekzon 3'te hem kontrol grubunda hem de

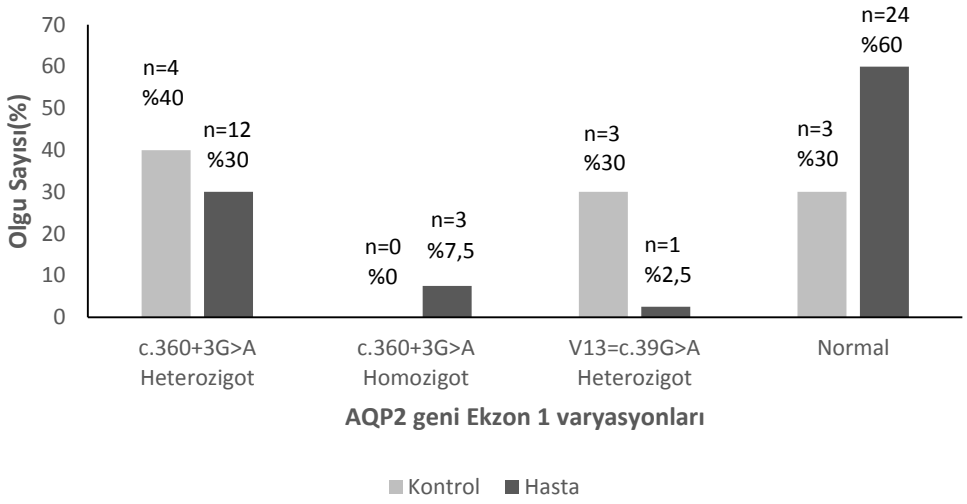
hasta grubunda genetik varyasyon görülmemiştir. PMEN'lı çocukların 1'inde (%2,5) AVP ekzon 2'de varyasyon varken, AVP ekzon 1 ve 3'te hem kontrol grubu hem de hasta grubunda genetik varyasyon yoktur (Tablo 6).

Tablo 6: Hasta ve kontrol gruplarındaki AQP2 ve AVP genlerindeki genetik varyasyonların dağılımı

		Hasta Grubu(%)	Kontrol Grubu(%)	χ^2	P
AQP2 Ekzon 1	**c.360+3G>A Heterozigot**	12 (%30)	4 (%40)	9,896	**0,019***
	c.360+3G>A Homozigot	3 (%7,5)	0 (%0)		
	V13=c.39G>A Heterozigot	1 (%2,5)	3 (%30)		
	Normal	24 (%60)	3 (%30)		
AQP2 Ekzon 2	**S167=c.501T>C Heterozigot**	18 (%45)	8 (%80)	4,021	0,134
	S167=c.501T>C Homozigot	20 (%50)	2 (%20)		
	Normal	2 (%5)	0 (%0)		
AQP2 Ekzon 3	**Var**	0 (%0)	0 (%0)	-	-
	Yok	40 (%100)	10 (%100)		
AQP2 Ekzon 4	**c.816+20C>A Heterozigot**	25 (%62,5)	3 (%30)	3,441	0,179
	c.816+20C>A Homozigot	11(%27,5)	5(%50)		
	Normal	4 (%10)	2 (%20)		
AVP Ekzon 1	**Var**	0 (%0)	0 (%0)	-	-
	Yok	40 (%100)	10 (%100)		
AVP Ekzon 2	**c.322+2T>G Homozigot**	1 (%2,5)	0 (%0)	4,297	0,117
	R51H c.152G>A Heterozigot	0 (%0)	1 (%10)		
	Normal	39 (%97,5)	9 (%90)		
AVP Ekzon 3	**Var**	0 (%0)	0 (%0)	-	-
	Yok	40 (%100)	10 (%100)		

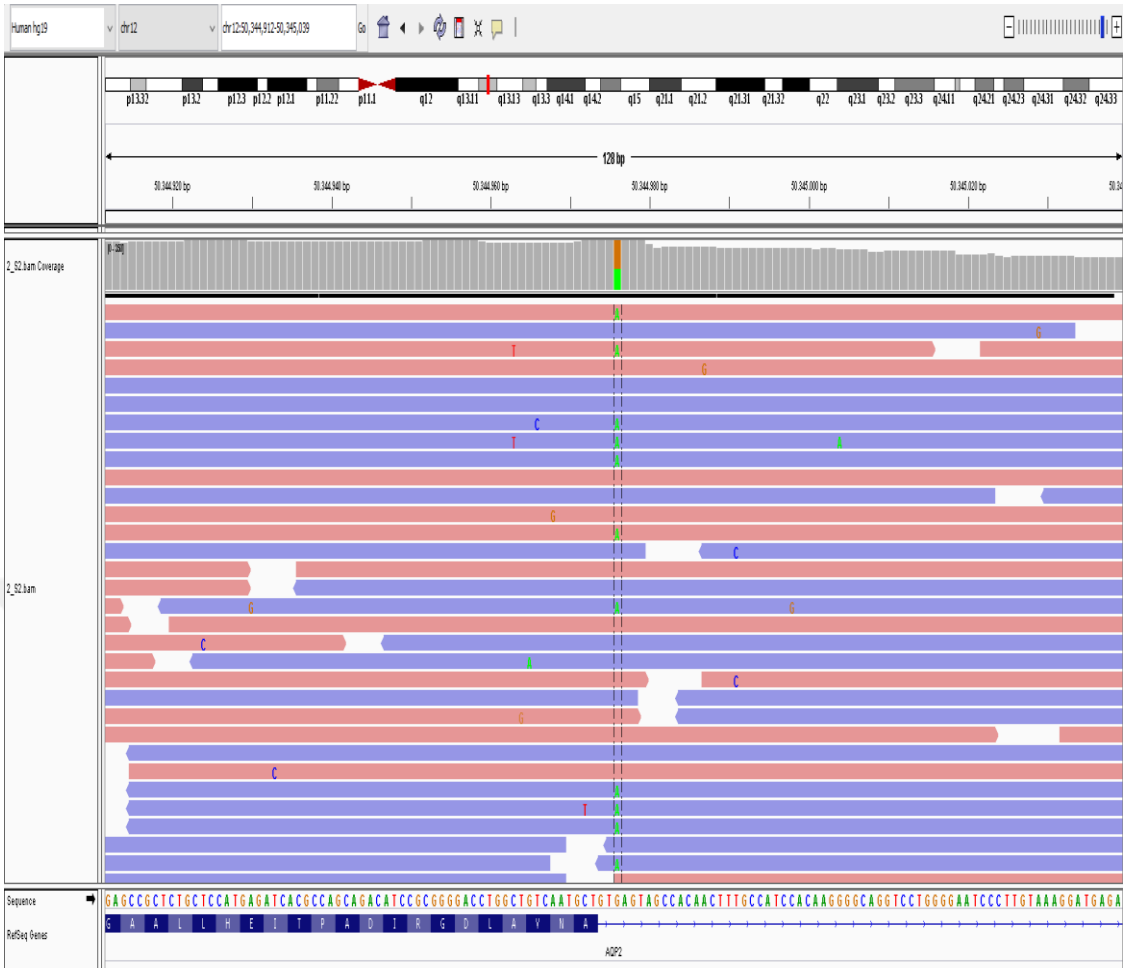
AQP2: Akuaporin 2 **AVP:** Arginin vazopressin

Tüm olguların AQP2 geni ekzon 1 varyasyon durumu incelendiğinde c.360+3G>A heterozigot varyasyonu kontrol grubunda 4 (%40), hasta grubunda 12 (%30) olguda vardı. Yine bu gendeki c.360+3G>A homozigot varyasyonu kontrol grubunda 0 (%0), hasta grubunda 3 (%7,5) olguda vardı. V13=c.39G>A heterozigot varyasyonu kontrol grubunda 3 (%30), hasta grubunda 1 (%2,5) olguda mevcuttu. Kontrol grubunda 3 (%30), hasta grubunda 24 (%60) olguda AQP2 geni ekzon 1 varyasyonu yoktu (Şekil 4).

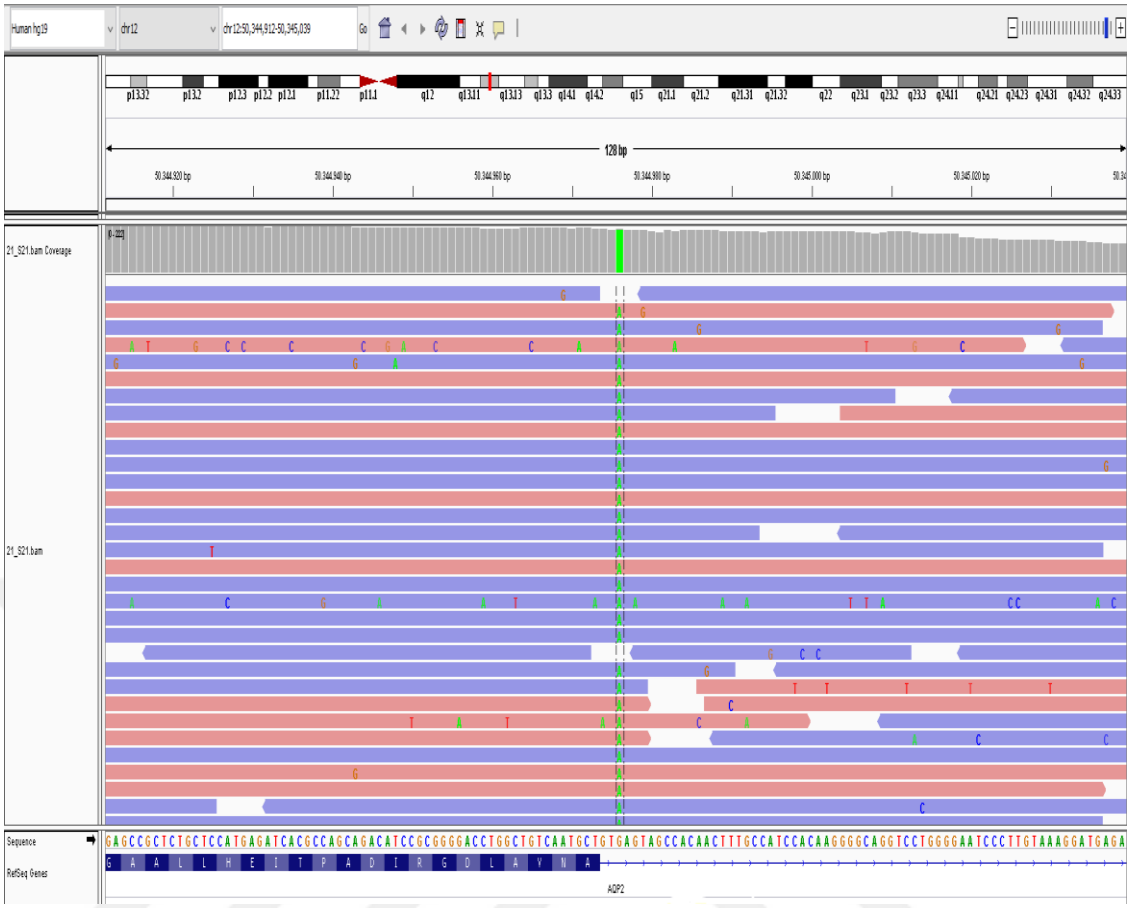


Şekil 4: Tüm olguların AQP2 geni ekzon 1 varyasyon durumu dağılımı

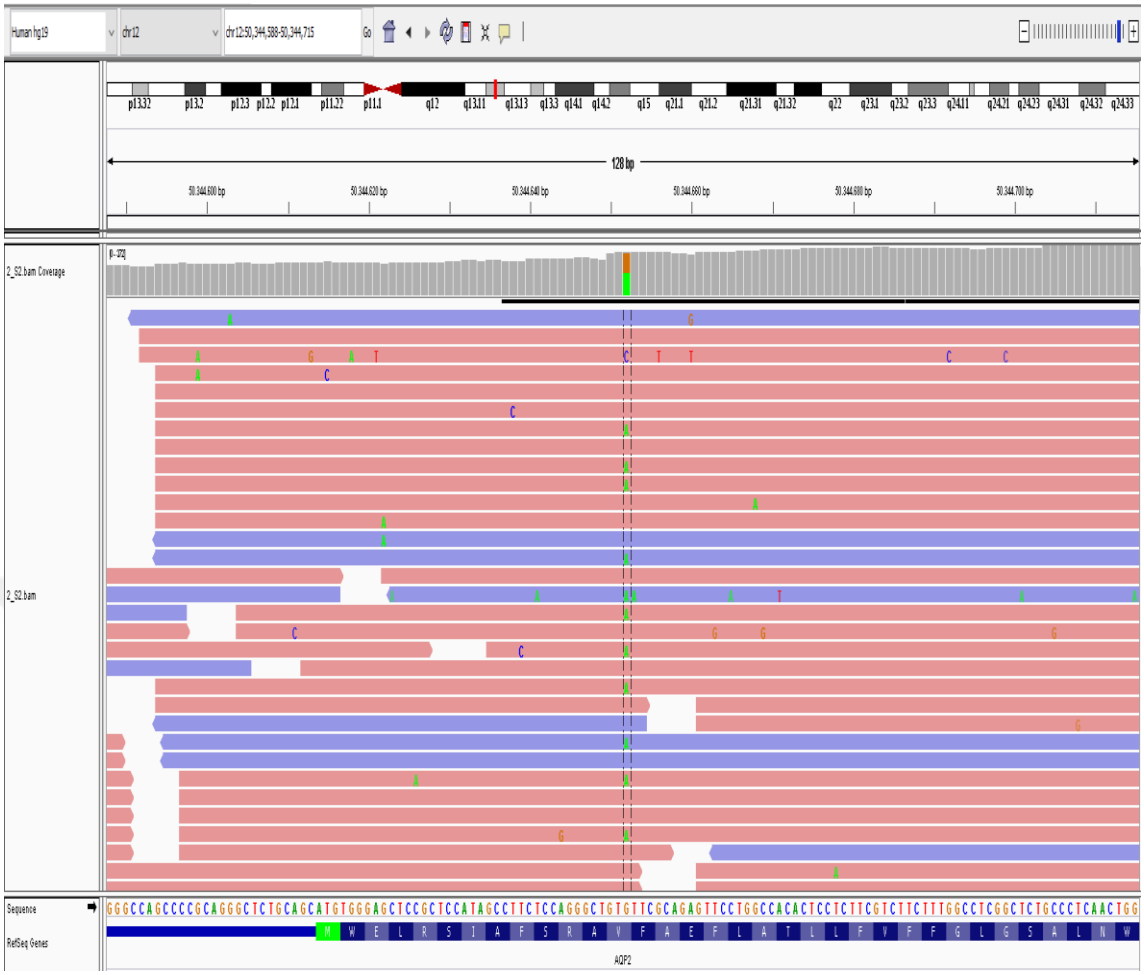
Kontrol grubu 3 numaralı olgumuza ait AQP2 geni ekzon 1 c.360+3G>A heterozigot varyasyonu NGS görüntüsü Şekil 5, 13 numaralı hastamıza ait AQP2 geni ekzon 1 c.360+3G>A homozigot varyasyonu NGS görüntüsü Şekil 6 ve kontrol grubu 3 numaralı olgumuza ait AQP2 geni ekzon 1 V13=c.39G>A heterozigot varyasyonu NGS görüntüsü Şekil 7'de verilmiştir.



Şekil 5: Kontrol grubundaki 3 numaralı olgunun AQP2 geni ekzon 1 c.360+3G>A heterozigot varyasyonu NGS görüntüsü

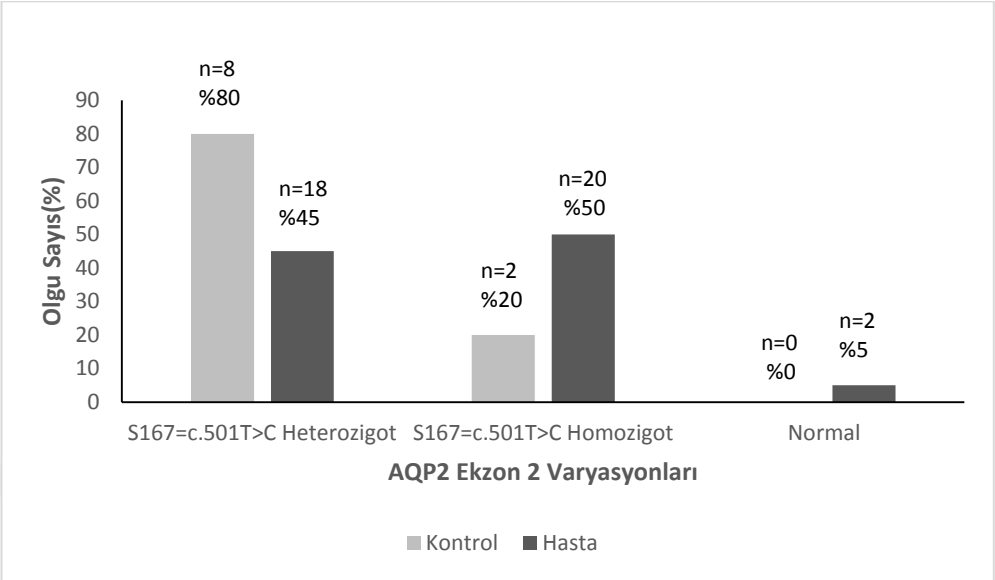


Şekil 6: Hasta grubundaki 13 numaralı olgunun AQP2 geni ekzon 1 c.360+3G>A homozigot varyasyonu NGS görüntüsü



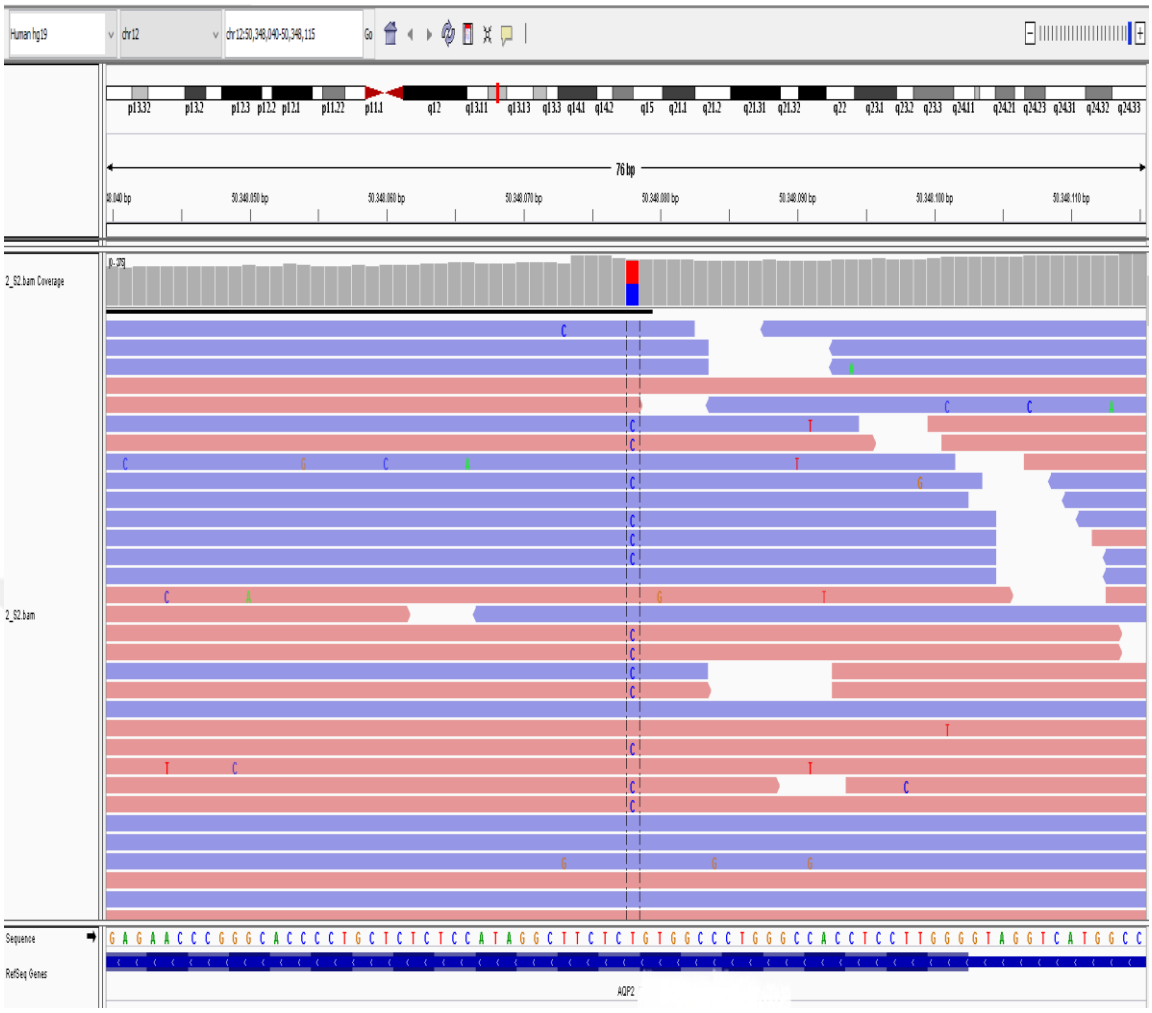
Şekil 7: Kontrol grubundaki 3 numaralı olgunun AQP2 geni ekzon 1 V13=c.39G>A heterozigot varyasyonu NGS görüntüsü

AQP2 geni ekzon 2 varyasyon durumu incelendiğinde S167=c.501T>C heterozigot varyasyonu kontrol grubunda 8 (%80), hasta grubunda 18 (%45) olguda vardı. Yine bu gendeki S167=c.501T>C homozigot varyasyonu kontrol grubunda 2 (%20), hasta grubunda 20 (%50) olguda vardı. AQP2 geni ekzon 2 varyasyonu hasta grubunda 2 (%5) olguda saptanmadı, kontrol grubunda ise tüm olgularda varyasyon vardı (Şekil 8).

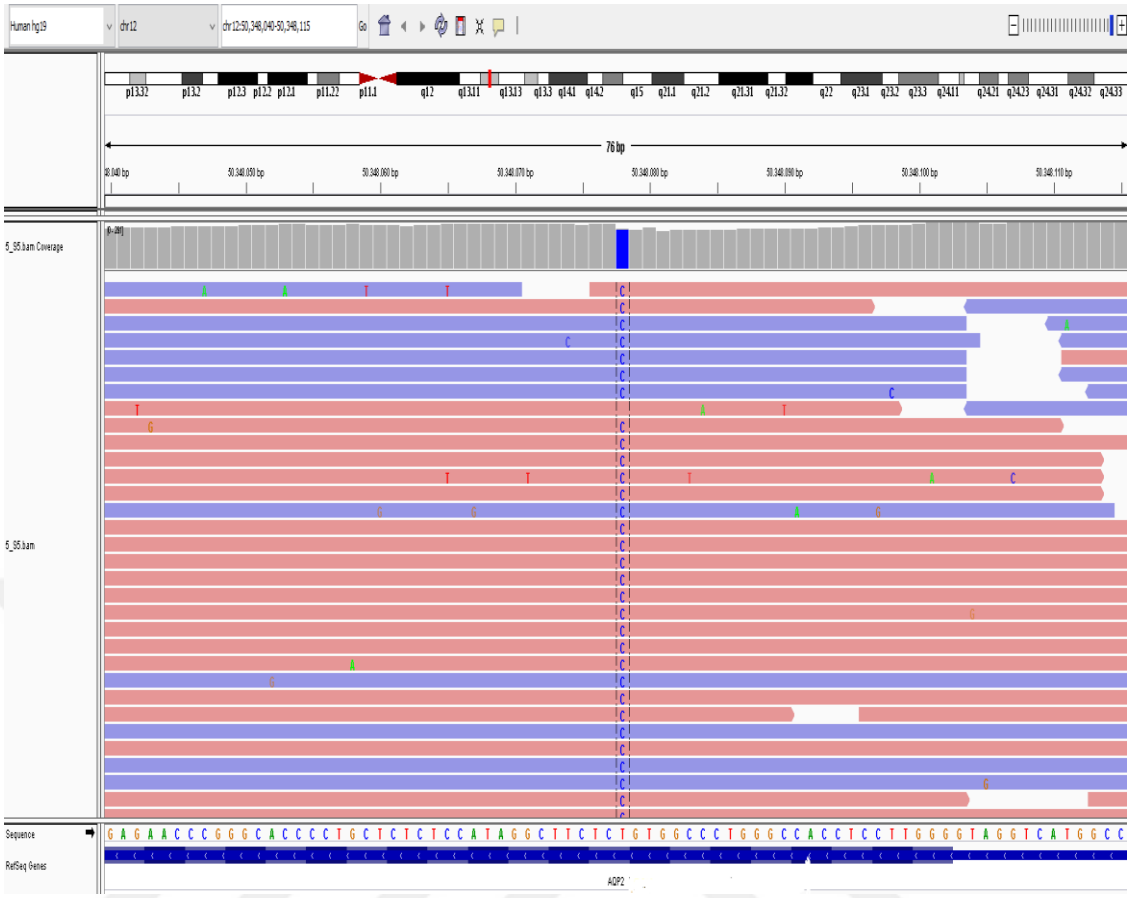


Şekil 8: Tüm olguların AQP2 geni ekzon 2 varyasyon durumu dağılımı

Kontrol grubu 3 numaralı olgumuza ait AQP2 geni ekzon 2 S167=c.501T>C heterozigot varyasyonu NGS görüntüsü Şekil 9 ve kontrol grubu 7 numaralı olgumuza ait AQP2 geni ekzon 2 S167=c.501T>C homozigot varyasyonu NGS görüntüsü Şekil 10'da verilmiştir.

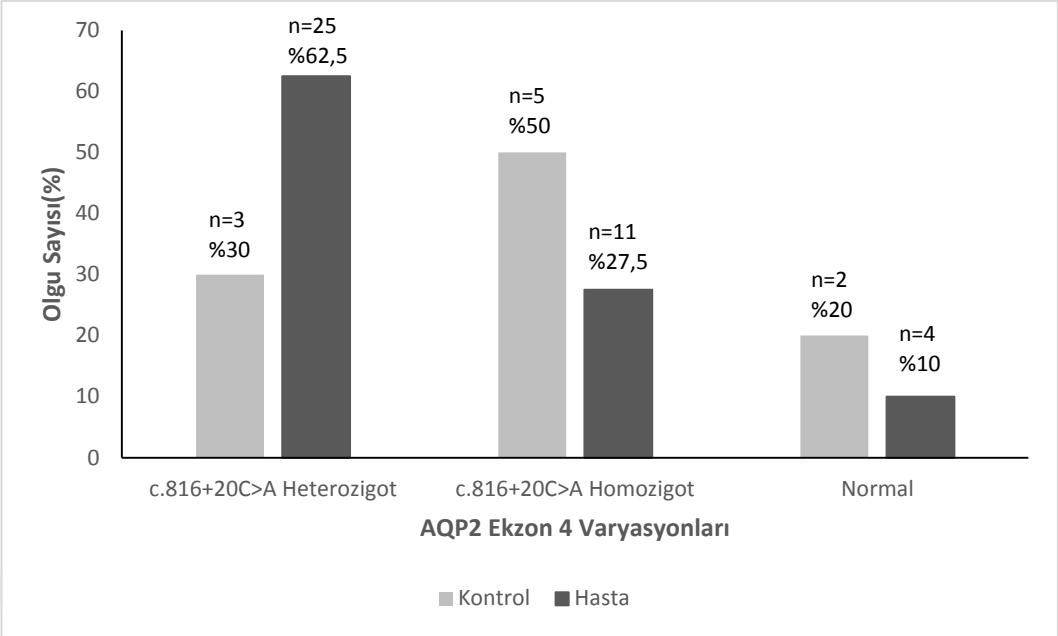


Şekil 9: Kontrol grubundaki 3 numaralı olgunun AQP2 geni ekzon 2 S167=c.501T>C heterozigot varyasyonu NGS görüntüsü



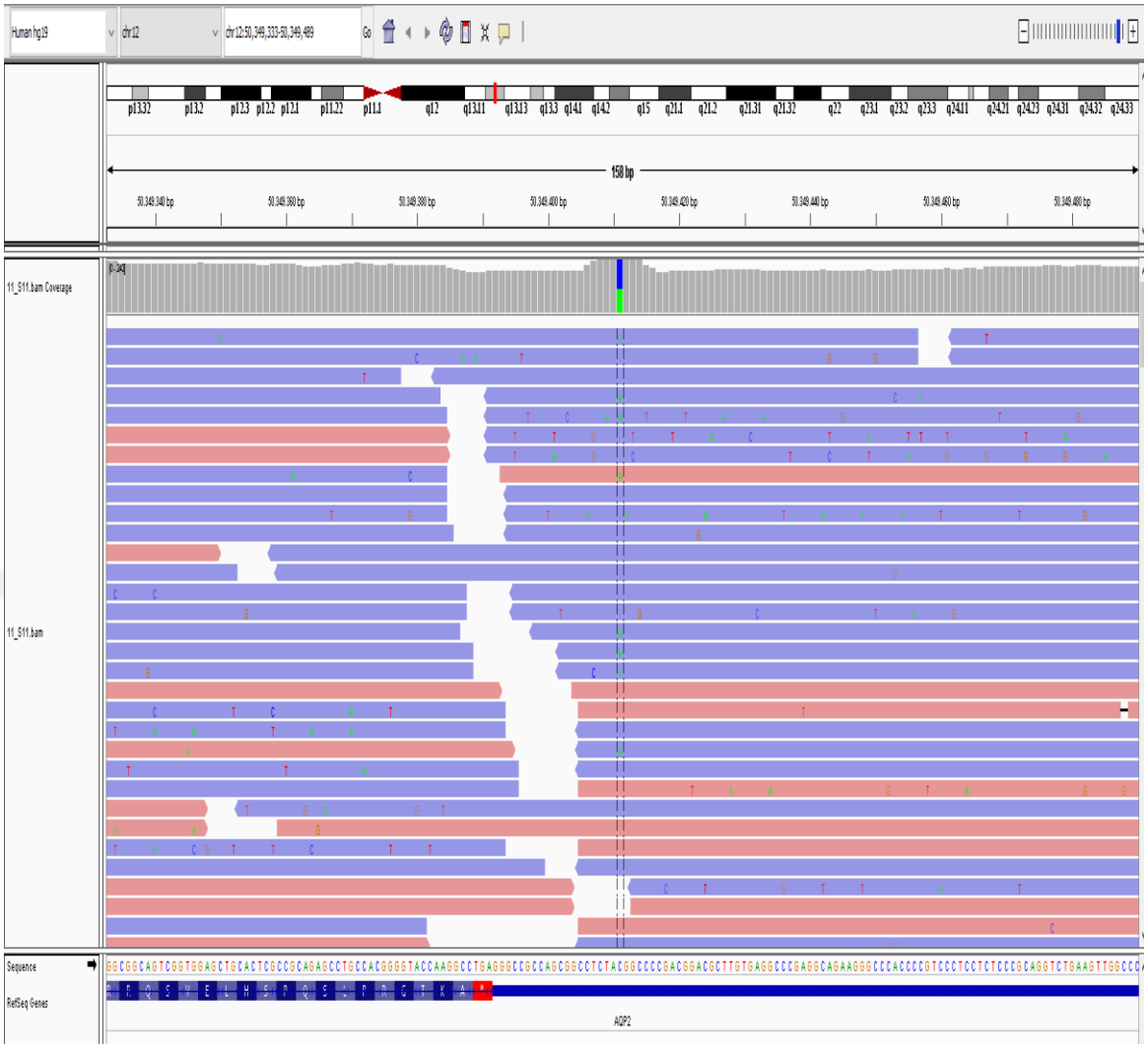
Şekil 10: Kontrol grubundaki 7 numaralı olgunun AQP2 geni ekzon 2 S167=c.501T>C homozigot varyasyonu NGS görüntüsü

AQP2 geni ekzon 4 varyasyon durumu incelendiğinde c.816+20C>A heterozigot varyasyonu kontrol grubunda 3 (%30), hasta grubunda 25 (%62,5) olguda vardı. Yine bu gendeki c.816+20C>A homozigot varyasyonu kontrol grubunda 5 (%50), hasta grubunda 11 (%27,5) olguda vardı. Kontrol grubunda 2 (%20), hasta grubunda 4 (%10) olguda AQP2 geni ekzon 4 varyasyonu yoktu (Şekil 11).

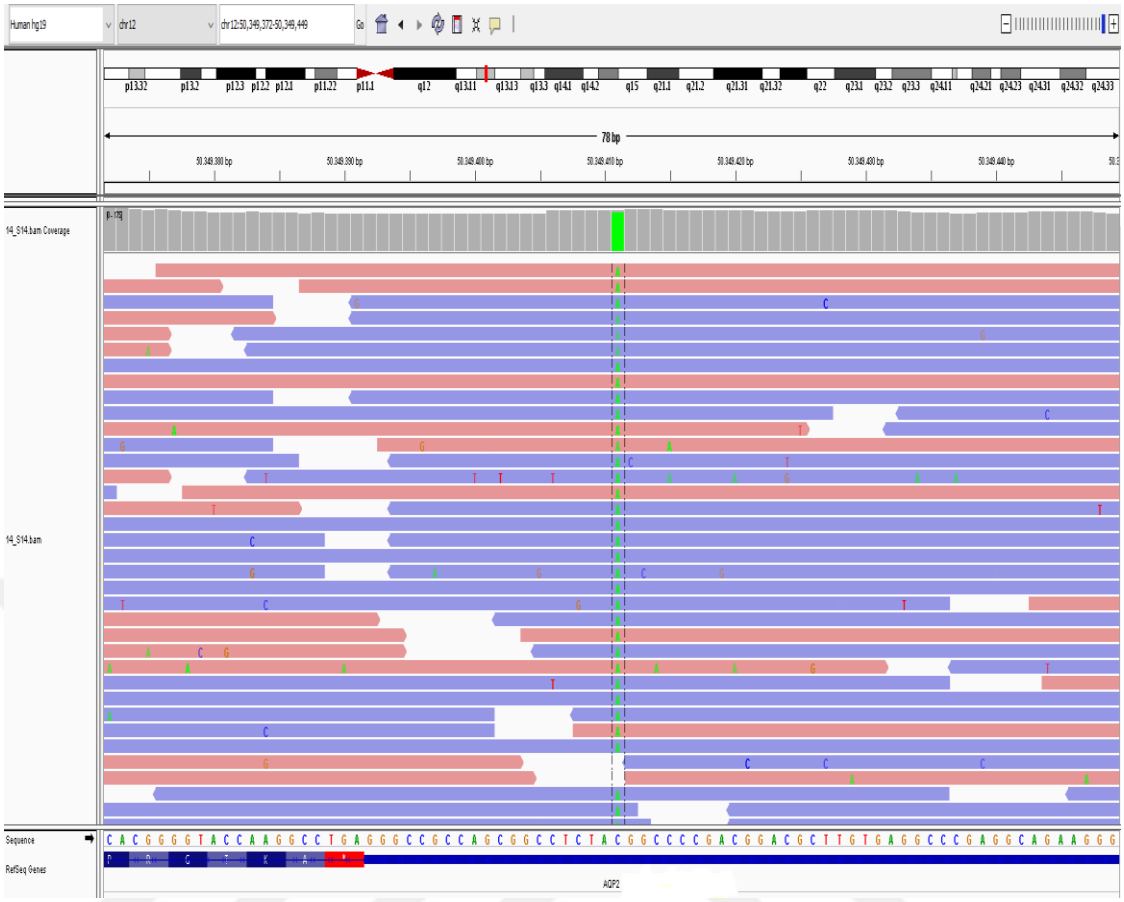


Şekil 11: Tüm olguların AQP2 geni ekzon 4 varyasyon durumu dağılımı

29 numaralı hastamıza ait AQP2 geni ekzon 4 c.816+20C>A heterozigot varyasyonu NGS görüntüsü Şekil 12 ve kontrol grubu 7 numaralı olgumuza ait AQP2 geni ekzon 4 c.816+20C>A homozigot varyasyonu NGS görüntüsü Şekil 13'te verilmiştir.

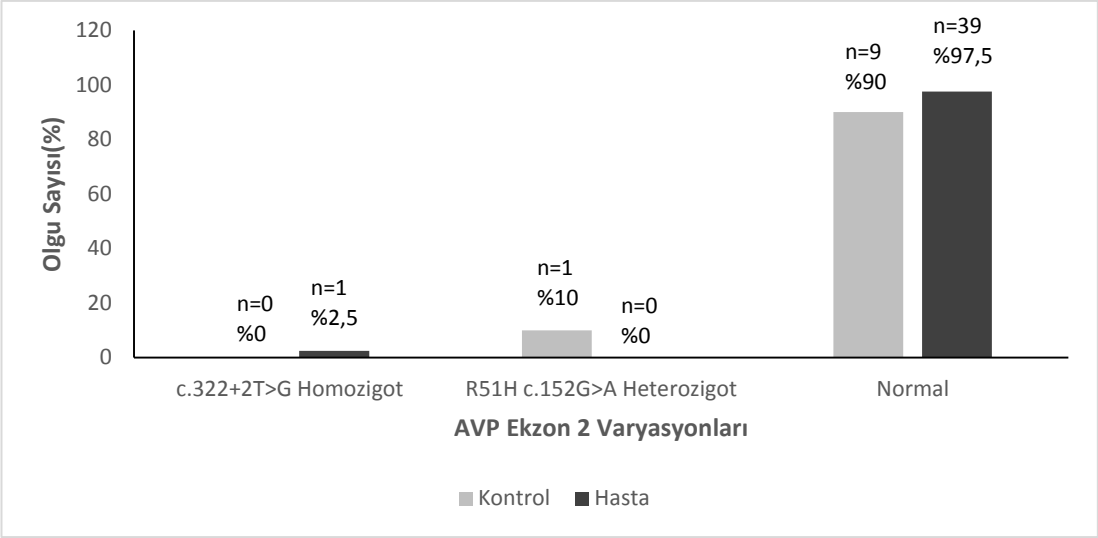


Şekil 12: Hasta grubundaki 29 numaralı olgunun AQP2 geni ekzon 4 c.816+20C>A heterozigot varyasyonu NGS görüntüsü



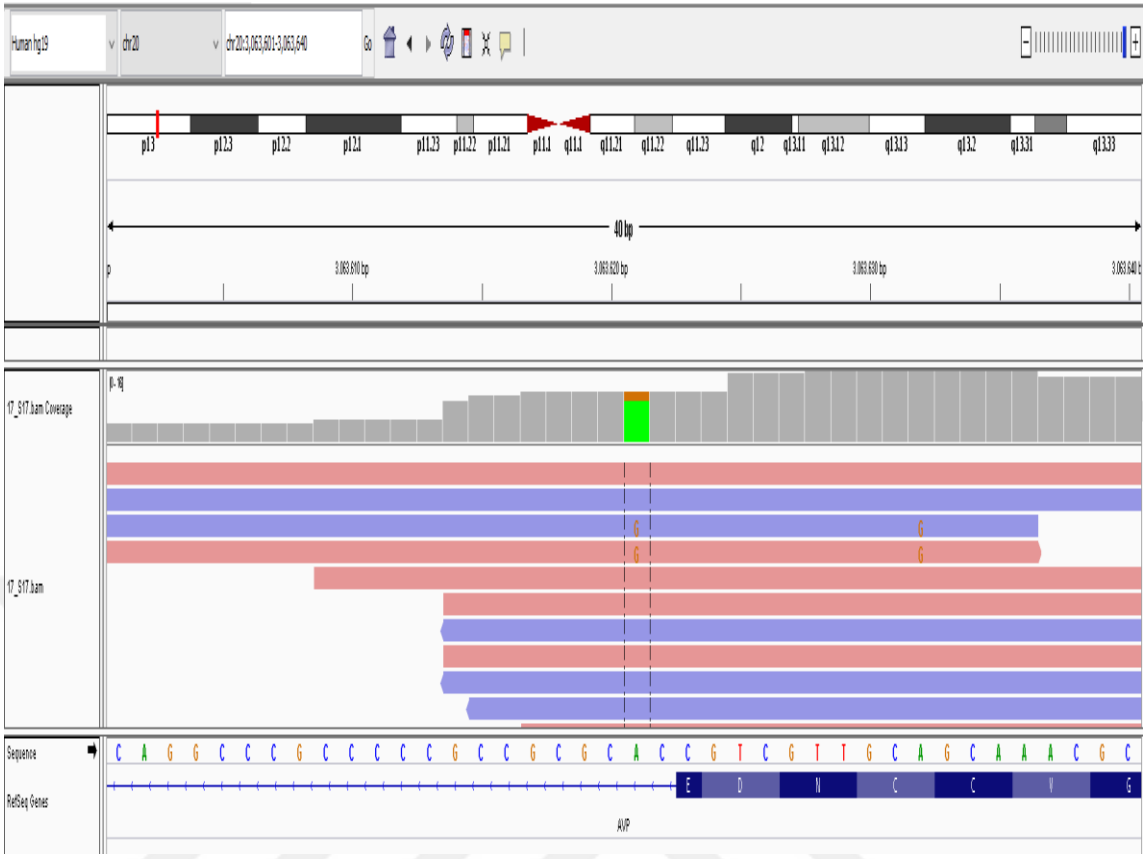
Şekil 13: Kontrol grubundaki 7 numaralı olgunun AQP2 geni ekzon 4 c.816+20C>A homozigot varyasyonu NGS görüntüsü

Tüm olguların AVP geni ekzon 2 varyasyon durumu incelendiğinde AVP geni ekzon 2'de hasta grubunda 1 (%2,5) olguda c.322+2T>G homozigot varyasyonu saptanırken kontrol grubunda bu varyasyon saptanmadı. Yine bu gendeki R51H c.152G>A heterozigot varyasyonu kontrol grubunda 1 (%10), hasta grubunda 0 (%0) olguda vardı. Kontrol grubunda 9 (%90), hasta grubunda 39 (%97,5) olguda AVP geni ekzon 2 varyasyonu yoktu (Şekil 14).

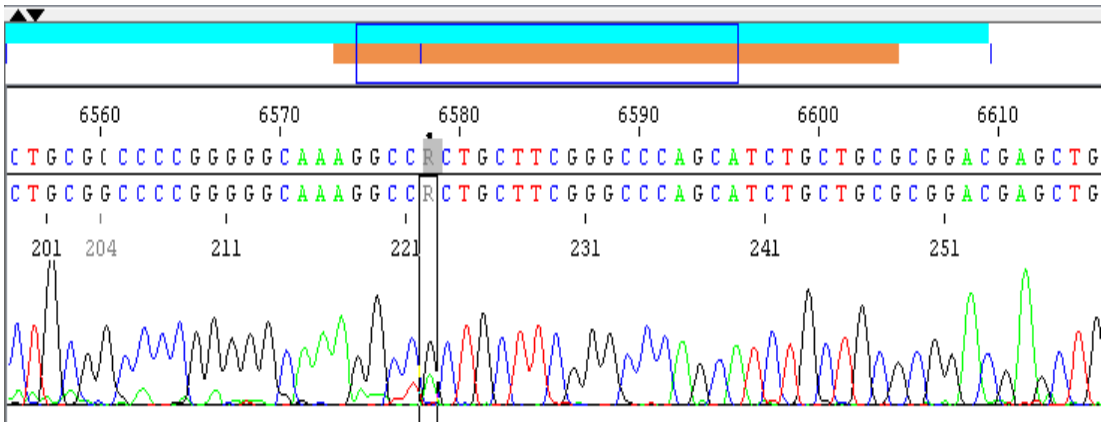


Şekil 14: Tüm olguların AVP geni ekzon 2 varyasyon durumu

30 numaralı hastamıza ait AVP geni ekzon 2 c.322+2T>G homozigot varyasyonu NGS görüntüsü Şekil 15 ve kontrol grubu 2 numaralı olgumuza ait AVP geni ekzon 2 R51H c.152G>A Heterozigot varyasyonu NGS görüntüsü Şekil 16'da verilmiştir.



Şekil 15: Hasta grubundaki 30 numaralı olgunun AVP geni ekzon 2 c.322+2T>G homozigot varyasyonu NGS görüntüsü



Şekil 16: Kontrol grubundaki 2 numaralı olgunun AVP geni ekzon 2 R51H c.152G>A heterozigot varyasyonu NGS görüntüsü

Çalışmaya katılan her iki grup da incelendiğinde AQP2 ekzon 1'de c.360+3G>A heterozigot varyasyonu olanların 12'sinde (%75) enürezis görüldüğü saptandı. Yine aynı gende c.360+3G>A homozigot varyasyonu olanların 3'ünde (%100) enürezis görüldü. V13=c.39G>A heterozigot varyasyonu olanların ise 3'ünde (%75) enürezis görülmedi. AQP2 ekzon 1'de varyasyon olup olmama ve uykuda idrar kaçırma arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($\chi 2$=9,896; p=0,019) (Tablo 7).

Tablo 7 : Tüm olguların AQP2 geni ekzon 1 genetik varyasyon olup olmama durumuna göre uykuda idrar kaçırma durumu

AQP2 Ekzon1		**Uykuda İdrar Kaçırma n(%)**	**χ^2**	**p**
c.360+3G>	Var	12 (75)		
A Het	Yok	4 (25)		
c.360+3G>	Var	3 (100)		
A Hom	Yok	0 (0)		
V13=c.39G	Var	1 (25)	9,896	**0,019**
>A Het	Yok	3 (75)		
Varyasyon	Var	24 (88,9)		
yok	Yok	3 (11,1)		

AQP2: Aquaporin 2 **Hom:** Homozigot **Het:** Heterozigot

Çalışmaya katılan her iki grup da incelendiğinde AQP2 geni ekzon 1'de c.360+3G>A heterozigot varyasyonu olanların 9'u (%56,3) uyanmada güçlük yaşıyordu. Yine aynı gende c.360+3G>A homozigot varyasyonu olanların 1'i (%33) ve V13=c.39G>A heterozigot varyasyonu olanların 1'i (%25) uyanmada güçlük yaşıyordu. AQP2 ekzon 1'de varyasyon olup olmama durumuna göre uyanmada güçlük çekme arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($\chi 2$=12,392; p=0,054) (Tablo 8).

Tablo 8 : Tüm olguların AQP2 geni ekzon 1 genetik varyasyon olup olmama durumuna göre uyanmada güçlük durumu

AQP2 Ekzon1		**Uyanmada Güçlük n(%)**	χ^2	**p**
c.360+3G>	Var	**9(56,3)**		
A Het	Yok	**7(43,7)**		
c.360+3G>	Var	1(33,3)		
A Hom	Yok	2(66,7)		
V13=c.39G	Var	**1(25)**	12,392	**0,054**
>A Het	Yok	**3(75)**		
Varyasyon	Var	14(51,9)		
yok	Yok	13(48,1)		

AQP2: Aquaporin 2 **Hom:** Homozigot **Het:** Heterozigot

AQP2 ekzon 1 varyasyonları taşıma durumu ve MPV değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (χ2=83,495; p=0,043). AQP2 ekzon 1 varyasyonları taşıma durumu ile diğer parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p>0,05). AQP2 ekzon 2 varyasyonları taşıma durumuna göre bakılan parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p>0,05). AQP2 ekzon 4 varyasyonları taşıma durumuna göre incelenen parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p>0,05).

AVP ekzon 1 varyasyonları taşıma durumu ile ilişkili parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p>0,05). AVP ekzon 2 varyasyonları taşıma durumu ile kreatinin (χ2=65,972; p=0,044), sodyum (χ2=100; p=0,002) ve idrar dansitesi değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (χ2=74,479;

p=0,005). AVP ekzon üç varyasyonları taşıma durumu ile ilişkili parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p>0,05).

Sadece hasta grubu dikkate alındığında AQP2 geni ekzon 1'de genetik varyasyon taşıma durumu ile MPV değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($\chi 2$=84,833; p=0,005). AQP2 ekzon 2, 3 ve 4 varyasyonları taşıma durumu ile ilişkili parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p>0,05).

AVP ekzon 1 varyasyonları taşıma durumu ile ilişkili incelenen parametreler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0,05). AVP ekzon 1 varyasyonları taşıma durumu ile ilişkili parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p>0,05). AVP ekzon 2 varyasyonları taşıma durumuna göre sodyum ($\chi 2$=40,000; p=0,021) ve idrar dansitesi değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($\chi 2$=40,000; p=0,021). AVP ekzon 3 varyasyonları taşıma durumu ile ilişkili parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p>0,05).

5.TARTIŞMA

Enürezis nokturna çocuk ve gençlerde yaygın olarak görülen bir sorundur. Alerjik bozukluklardan sonra 6-14 yaş arası çocukları etkileyen en yaygın ikinci hastalıktır (133). Yapılan bir çalışmada 6-12 yaş arasında insidansı %15-25 oranında gösterilmiştir (134). Yapılan çalışmalara bakıldığında Suudi Arabistan'da 5-12 yaş arasındaki çocuklarda prevalans %76,4, Fransa'da 5-16 yaş arası çocuklarda %12,95, İran'da %11,01, Hindistan'da 6-10 yaş arası çocuklarda %7,61 ve Türkiye'de yapılan iki farklı çalışmada prevalans %12,4 ve %13 bulunmuştur (135-139). Prevalansın yaş ilerledikçe azaldığı gösterilmiştir (140).

Enürezis nokturna bir dizi davranışsal, psikolojik ve sosyal sorunu tetikleyebileceğinden bu durumdan etkilenen çocukların belirlenmesi ve teröpatik önlemlerin alınması önemlidir (140). Okul çağındaki çocukların önemli gelişimsel bir problemi olan enürezis nokturna hem çocuk hem de aileyi etkilemektedir. Kronik anksiyeteye sebep olabilen bu durum nedeniyle ortaya çıkan psikolojik ve gelişimsel hasar, enürezisin kendisinden çok daha yıkıcı olabilmektedir. Bu bakımdan önemli bir halk sağlığı sorunu olarak değerlendirilmektedir (133).

Yapılan çalışmalar enürezis nokturnanın patofizyolojisinde genetik, gelişimsel ve psikolojik faktörlerin etkili olduğu, multifaktöriyel bir durum olduğunu göstermiştir (141). Enürezis nokturna primer ve sekonder şeklinde sınıflandırılır. Primer yaygın olan tiptir. Bu durumun genetik yatkınlıktan veya nörolojik olgunlaşmadaki gelişimsel gecikmelerden kaynaklandığı düşünülmektedir (142). Aile ve ikiz çalışmaları da enürezis nokturnanın büyük ölçüde kalıtımsal olduğunu göstermiştir. Bu da EN'da genetiğin önemli bir etiyolojik faktör olduğunu düşündürmektedir (143).

Enürezis nokturna ile ilgili yapılan çalışmalarda prevalansın erkek çocuklarda kızlardan daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Suudi Arabistan'da 5-12 yaş arası çocuklarla yapılan anket tabanlı bir çalışmada enürezis nokturna prevalansı erkeklerde (%79,5) kızlardan (%73,3) daha yüksek bulunmuştur (135). Başka bir çalışmada erkekler arasında enürezis prevalansının kızlara göre 1,65 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (138). Bakhtiar ve arkadaşları da yaptıkları bir çalışma sonucu

erkeklerde prevalansın kızlara göre daha fazla olduğunu göstermiştir (144). Ülkemizde yapılan bir prevalans çalışmasında nokturnal enürezisin genel prevalansı %9,52 olmakla birlikte erkek ve kızlarda sırasıyla prevalans %12,4 ve %6,5 bulunmuştur (145). Gümüşhane ilinde yapılan başka bir çalışmada ise cinsiyet ile enürezis arasında anlamlı ilişki saptanmamış olmasına rağmen enürezis nokturnası olan çocukların %53,1'inin kız, %46,9'unun erkek olduğu bildirilmiştir (146). Bizim çalışmamızda ise gruplar arasında cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Bu durumun nedenlerinden biri çalışmamızı prevalans çalışması olarak tasarlamamış olmamız diğer bir nedeni de AQP2 ve AVP genlerinde gösterilecek olan genetik değişimler arasındaki ilişkiyi incelerken cinsiyet farkı nedeniyle oluşabilecek değişiklikleri azaltmak istememizdir.

Avrupa'da yapılan çalışmalarda prevalansın 5 yaşında % 9-19, 7 yaşında %7-22, 9 yaşında % 5-13, 16 yaşında ise % 1-2 olduğu gösterilmiştir. Enürezis nokturna her yıl %15 oranında kendiliğinden düzelmektedir. Erken çocukluk döneminde stres de dahil olmak üzere çevresel faktörlerin etiyolojide önemli rolü olduğu bilinmektedir. Olası mekanizma antidiüretik hormonun stres hormonu olan kortizon tarafından baskılanmasıdır (147). Ülkemizde yapılan bir çalışmada enürezis prevalansının erken adölesan dönemde çocukluk çağındakilere göre, geç adölesan dönemde de erken adölesan dönemdekilere göre düşük olduğu gösterilmiştir (148). Bizim çalışmamızda da başvuru yaşı açısından gruplar arasında anlamlı farklılık olmamakla birlikte hasta grubundakilerin %35'i 7-9 yaş arasında iken %20'si 12-15 yaş arasındadır.

Çocukluk çağı obezitesi dünyada 6-11 yaş arası çocuklarda görülen en yaygın metabolik bozukluklardan birisidir (149). Obezitenin çocukluk çağında görülen enürezis nokturna ile ilişkisi olduğuna dair farklı görüşler olmakla birlikte üzerindeki etkisi kapsamlı bir şekilde araştırılmamıştır. Çin'de yapılan bir çalışmada obez çocuklarda nokturnal enürezis görülme olasılığı normal VKİ'ye sahip akranlarına kıyasla 1,36 kat daha yüksek bulunmuştur (150). ABD'de yapılan bir çalışmada işeme disfonksiyonu olan çocuklardan sadece enürezis nokturnası olanların %86'sının obez olduğu gösterilmiştir (151). 5-15 yaş arası 666 PMEN tanılı çocukla yapılan bir çalışmada da nokturnal enürezis ile obezite arasında ilişki olduğu, obez ve

fazla kilolu çocuklarda normal kilolu çocuklara göre şiddetli enürezis (haftada 5-7 kez idrar kaçırma) gelişme olasılığının daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bunun ilk sebebi obezitenin karın içi basıncı arttırıp pelvik tabanı basınca maruz bırakarak fonksiyonel mesane kapasitesini azaltması, ikinci sebebi monosemptomatik nokturnal enürezisin psikolojik stres sonrası ortaya çıkması ve obez çocukların akranlarına göre daha yüksek düzeyde psikolojik sıkıntı içinde olmaları, üçüncüsü obezitenin diüreze sebep olabilen hiperglisemi ile ilişkili olması ve dördüncüsü de obezitenin horlama, obstruktif uyku apnesi, üst solunum yolu direnci sendromu ve hipoventilasyonla ilişkili olarak enürezise sebep olması gösterilmiştir (152). Bizim çalışmamızda PMEN'lı grupta vücut ağırlığı persantili (67,9±28,830) kontrol grubunun vücut ağırlığı persantiline göre (39,6±22,382) anlamlı derecede yüksekti (p=0,008). Yine PMEN'lı grupta boy persantili (59,70±26,993) kontrol grubunun boy persantiline göre (39,3±21,78) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (p=0,029). Hasta grubunun ortalama VKİ 20,041±4,560 olup normal ağırlıklı olarak değerlendirilmektedir ve kontrol grubu ile arasında anlamlı bir farklılık yoktur (p=0,073). Çalışmamızda obezite ile PMEN arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır.

Hipokaleminin muhtemelen böbreklerdeki AQP2 su kanalı ekspresyonunun azalmasına yol açarak poliüriye neden olduğu bilinmektedir (153). Ancak bunun aksine PMEN'li çocuklarla yapılan bir çalışmada serum potasyum düzeyi tüm deneklerde normal aralıkta olmakla birlikte ortalama potasyum düzeyi hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur, aynı çalışmada sodyum değeri açısından gruplar arasında anlamlı fark görülmemiştir (154). Bizim çalışmamızda ise potasyum değeri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark yokken (p=0,416), sodyum değerinin normal aralıkta olmakla birlikte hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı yüksek (p=0,052) bulunmuştur. Bu nedenle sodyum ve potasyum iyonlarının enurezis nokturna üzerindeki etkisini anlayabilmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Ülkemizde 7-12 yaş arası çocuklarda enuresis nokturna sıklığı ve risk faktörlerinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada eğitim düzeyi ilkokul ve altında olan annelerin çocuklarında enuresis nokturna görülme oranının daha yüksek

olduğu belirtilmiştir (155). Manisa'da 5-14 yaş arası çocuklarla yapılan bir çalışmada anne ve babaların eğitim düzeyi arttıkça enuresis nokturna görülme prevalansının anlamlı olarak azaldığı ve bu çocukların %29,8'inin annesinin, %44,4'ünün babasının eğitimsiz olduğu gösterilmiştir (156). İran'da 6-10 yaş arası DEHB tanılı 331 çocuğun dahil edildiği bir başka çalışmada ebeveynlerdeki düşük eğitim düzeyinin EN oranında artışa neden olduğu belirtilmiştir (157). Bunun yanında Hindistan'da yapılan bir çalışmada ise anne ve baba eğitimi ile PMEN arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (158). Bizim çalışmamızda anne ve baba eğitim düzeyi açısından hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmamakla birlikte hasta grubundaki çocukların % 62,5'inin (n=25) annesinin ortaokul ve altı, % 50'sinin (n=50) babasının ortaokul ve altında eğitim durumu olduğu görüldü.

Tai ve arkadaşları yaptıkları epidemiyolojik bir çalışmada uyanma güçlüğü ve enürezis nokturna arasında ciddi bir ilişki bulmuştur (159). Doğaner ve arkadaşlarının ülkemizde yaptığı bir çalışmada NE görülen çocukların %31,7'sinin sabah uyandırılmakta sorun yaşandığı, bu oranın enüretik olmayan çocuklarda %17,3 olduğu gösterilmiştir (160). Türkiye'de yapılan başka bir çalışmada enüretik çocukların %50,8'inde uyanma güçlüğü olduğu belirlenmiştir (146). Schlomer ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ebeveynler tarafından enürezisin en sık nedeninin derin uyku olduğu bildirilmiştir (161). Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak hasta grubundaki çocukların %62,5'i (n=25) uykudan uyandırılmakta güçlük yaşıyordu.

Enürezisin etiyolojisinde genetik faktörlerin rol oynadığı ileri sürülmekle birlikte yapılan çalışmalarda her iki ebeveynde enürezis öyküsü olması durumunda çocuktaki enürezis insidansının %77, ebeveynlerden birinde öykü olması durumunda insidansın %44, her iki ebeveynde de öykü olmadığında ise bu oranın %15 olduğu bildirilmiştir. Ayrıca çocuğun birinci derecede en az iki akrabasında enürezis olması durumunda mesane kontrolünün ortalama 1,5 yıl geciktiği saptanmıştır (162). İstanbul'da 5-14 yaş arası 131 çocukla yapılan bir çalışmada ailede enürezis öyküsünün enüretik çocukların %11,3'ünde sadece annede, %32,2'sinde sadece babada, %3,6'sında her iki ebeveynde, %22,8'inde kardeşte, %34,7'sinde ise diğer

akrabalarda pozitif olduğu gösterilmiştir (163). Nijerya'da yapılan bir çalışmada enürezis nokturnası olan çocukların %45'inde aile öyküsü saptanmış ve bunların %80'inden fazlasının yatak ıslatma öyküsü olan veya halen enüretik olan kardeşinin olduğu belirtilmiştir (164). Ergüven ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada primer enürezis nokturnalı çocukların %90'ının 1. ve 2. derece akrabalarında primer enürezis nokturna öyküsü varken, kontrol grubunda bu oran sadece %7,5 bulunmuştur (165). Bizim çalışmamızda aile öyküsü açısından değerlendirdiğimizde hasta grubundakilerin %7,5'inde (n=3) annede, %5'inde (n=2) anne, baba ve kardeşte, %5'inde (n=2) anne ve kardeşte, %25'inde (n=10) babada, %7,5'inde (n=3) baba ve kardeşte, %7,5'inde (n=3) sadece kardeşte enürezis öyküsü varken %42,5'inde (n=17) enürezis öyküsü yoktu. Buna göre birinci derece akrabada enürezis olan çocuklarda enürezis gelişme riski, öykü olmayana göre 1,353 kat daha fazladır. İkinci derece akrabalarda (amca, hala, dayı, teyze) enürezis öyküsü açısından kıyaslama yapıldığında hasta grubunda %75 (n=30), kontrol grubunda %20 (n=2) çocuğun akrabasında öykü mevcuttu. Buna göre ikinci derece akrabada enürezis olan çocuklarda enürezis gelişme riski, öykü olmayana göre 1,688 kat daha fazladır.

Sıvı homeostazı yeterli su alımı ve uygun AVP salgılanmasının ardından uygun su atılımı ile sağlanır. AVP antidiüretik etkisini böbrek toplayıcı kanal epitel hücrelerinin bazolateral membranı üzerindeki G protein bağlı bir reseptör olan vazopressin reseptörüne (AVP2R) bağlanarak etki gösterir. Reseptör aktivasyonunu takiben artan hücre içi cAMP, su kanalı AQP2'nin toplayıcı kanal hücrelerinin apikal membrana iletilmesine aracılık eder. Bu da artan su geçirgenliği ve antidiürez ile sonuçlanır (166). İdrar konsantrasyonu ve sıvı retansiyonunun en çok bilinen defektlerinde AQP2'nin değişen ekspresyon seviyeleri tanımlanmıştır. Örneğin enürezis nokturna ve diabetes insipitusta azalmış, kalp yetmezliği ve gebelikte artmış ekspresyonu görülür (167).

Vazopressin eksikliği olan Brattle Boro sıçanlarında yapılan çalışmalar, aşırı poliüri ile ilişkili olarak düşük AQP2 seviyelerini göstermiştir ve beş günlük vazopressin tedavisinden sonra AQP2 seviyesinin üç kat arttığı belirtilmiştir. Nokturnal enürezisi olan hastalarda AVP'deki gece anormal artışla ilişkili olan

poliüri ve idrar konsantrasyon defektleri, kısmen vazopressin aracılı AQP2 ekspresyonunun olmamasına bağlı olabilir, çünkü bu hastalarda desmopressin tedavisi, gece idrar üretimlerini normalleştirmiştir (168). Dominant enürezis nokturnası olan altı ailenin bireylerinde AQP2 genindeki bir mutasyonun bu ailelerdeki primer enürezis nokturnaya sebep olup olmadığını belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, bir ailede intron 1 bağlayıcı donör bölgesinde guaninden adenine dönüşüm olduğu görüldü ancak bu dönüşüm aynı zamanda sağlıklı deneklerde de vardı. Başka bir ailede intron 1 bağlayıcı alıcı bölgesinde sitozinden timine değişim tanımlandı ancak bu değişim de genellikle bağlayıcı alıcı bölgelerinde bulunuyordu. İki ailede de ekzon 3'ün kodlanma bölgesinde sitozinden timine dönüşüme neden olan fakat aminoasit değişimine yol açmayan sessiz mutasyon tanımlandı. Sonuç olarak yapılan bu çalışmada AQP2 geni mutasyonları dominant primer enürezis nokturnada gösterilmesi gerekirken, bu ailelerde gösterilememiştir (169). Gece idrar kaçırma nedeniyle değerlendirilen, su kısıtlama testi ve hipertonik salin testi sonucunda kısmi renal ADH direnci düşünülen 8 yaşındaki bir çocukta yapılan genomik DNA analizinde AVPR2 geninde yeni bir yanlış anlamlı mutasyon (p.L161P) tespit edilmiştir (170). AVP'ye yanıt olarak idrar konsantrasyonunun sağlanmasından sorumlu su kanalı AQP2'nin genellikle mutasyona uğramış proteinler nedeniyle ortaya çıkan işlev eksikliği büyük idrar hacimleriyle karakterize bir durum olan nefrojenik diabetes insipitusa (NDI) neden olur. NDI tanılı bir kadın hastada AQP2 geni ekzon 2'de c.374C>T mutasyonu saptanmıştır. AQP2 geni mutasyonları ve işlevi arasındaki ilişki tam olarak aydınlatılmamıştır. Bununla birlikte yapılan çalışmalarda AQP2 mutasyonlarının bozulmuş su kanalı işlevine neden olduğu gösterilmiştir (171).

AQP2 ve AVP genlerinde oluşmuş olan genetik değişimler ile PMEN arasındaki ilişkiyi incelediğimiz çalışmamıza dahil olan olgularda AQP2 geninde ekzon 1'de c.360+3G>A heterozigot, c.360+3G>A homozigot, V13=c.39G>A heterozigot varyasyonları, ekzon 2'de S167=c.501T>C heterozigot, S167=c.501T>C homozigot varyasyonları, ekzon 4'te c.816+20C>A heterozigot, c.816+20C>A homozigot varyasyonları saptanmıştır. AVP geninde ise sadece ekzon 2'de c.322+2T>G homozigot ve R51H c.152G>A heterozigot varyasyonları saptanmıştır. Bu varyasyonlar içinde AQP2 ekzon 1'deki c.360+3G>A homozigot varyasyonu ve

AVP geni ekzon 2'deki c.322+2T>G homozigot varyasyonuna sadece PMEN'lı çocuklarda rastlanmış, kontrol grubundaki çocuklarda rastlanılmamış olması nedeniyle tespit edilen bu değişikliklerin PMEN için belirteç olarak kullanılabileceğini düşünüyoruz. Aynı zamanda hasta grubunda AQP2 ekzon 1'deki c.360+3G>A homozigot varyasyonu olan olguların haftada 5-7 kez, AVP geni ekzon 2'deki c.322+2T>G homozigot varyasyonu olan olgunun da haftada 7 kez uykuda altına kaçırma şikayeti olduğu görülmüştür. Bu nedenle tespit edilen bu varyasyonların şiddetli enürezis ile ilişkili olabileceğini tahmin ediyoruz. Fakat bu değişimlerin PMEN'lı çocuklarda meydana getirdikleri klinik ve biyokimyasal etkileri ile ilgili daha net bilgiler elde edebilmek için çok sayıda olgunun katıldığı ilave çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

Literatür incelendiğinde görüldüğü kadarıyla PMEN'lı çocuklarda AQP2 ve AVP genlerinin yeni nesil dizi analizi ile tarandığı herhangi bir çalışma yoktur. Bizim çalışmamız bu nedenle ilk çalışma olması özelliği taşımaktadır ve PMEN'nın genetik ile olan ilişkisinin daha iyi anlaşılması konusunda mevcut literatüre önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

6. SONUÇLAR

1. PMEN tanısı alan 40 hastanın 23'ü kız (%57,5), 17'si erkek (%42,5) idi. Kız/erkek oranı 1,35/1 olarak hesaplandı.

2. Hasta grubunda 23 (%57,5) çocukta ailede enürezis öyküsü mevcuttu.

3. Hasta grubundaki 30 (%75) çocuğun ikinci derece akrabasında enürezis öyküsü mevcuttu.

4. PMEN'lı grupta vücut ağırlığı persantili (67,9±28,830) kontrol grubunun vücut ağırlığı persantiline göre (39,6±22,382) anlamlı derecede yüksekti (p=0,008). PMEN'lı grupta boy persantili (59,70±26,993) kontrol grubunun boy persantiline göre (39,3±21,78) anlamlı derecede yüksek bulundu (p= 0,029).

5. Hasta grubunda 25 (% 62,5) çocuk uykudan uyandırılmakta güçlük yaşıyordu.

6. Çalışmaya alınan olgularda AQP2 geni ekzon 1'de c.360+3G>A heterozigot, c.360+3G>A homozigot ve V13=c.39G>A heterozigot varyasyonları saptandı.

7. AQP2 ekzon 1'de c.360+3G>A heterozigot varyasyonu olanların %75, c.360+3G>A homozigot varyasyonu olanların %100, V13=c.39G>A heterozigot varyasyonu olanların da %25'inde enürezis görüldüğü saptandı. AQP2 ekzon 1'de varyasyon olup olmama durumuna göre uykuda idrar kaçırma arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görüldü ($\chi 2$=9,896; p=0,019).

8. Çalışmaya alınan olgularda AQP2 geni ekzon 2'de S167=c.501T>C heterozigot ve S167=c.501T>C homozigot varyasyonları saptandı.

9. Çalışmaya alınan olgularda AQP2 geni ekzon 4'te c.816+20C>A heterozigot ve c.816+20C>A homozigot varyasyonları saptandı.

10. Çalışmaya alınan olgularda AVP geni ekzon 2'de c.322+2T>G homozigot ve R51H c.152G>A heterozigot varyasyonları saptandı.

11. AQP2 ekzon 1'deki c.360+3G>A homozigot varyasyonu ve AVP geni ekzon 2'deki c.322+2T>G homozigot varyasyonunun sadece hasta grubundaki çocuklarda olduğu görüldü. Bu değişikliklerin PMEN için belirteç olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

.

7.KAYNAKLAR

1. Kiddoo D. Nocturnal enuresis: non-pharmacological treatments. BMJ Clinical Evidence. 2015 Jan 13;2015 pii:0305

2. Arda E, Çakıroğlu B, Thomas DT. Primary nocturnal enuresis: A Review. Nephro-Urology Monthly. 2016 Jul; 8(4): e35809

3. Kamperis K, Van Herzeele C, Rittig S, Vande Walle J. Optimizing response to desmopressin in patients with monosymptomatic nocturnal enuresis. Pediatr Nephrol. 2017 Feb; 32(2):217-226

4. Neveus T. Nocturnal Enuresis – theoretic background and practical guidelines. Pediatr Nephrol. 2011 Aug; 26(8):1207-14

5. Van Kerrebroeck P, Hashim H, Holm-Larsen T, Robinson D, Stanley N. Thinking beyond the bladder: antidiuretic treatment of nocturia. İnt J Clin Prac. 2010 May; 64(6):807-16

6. Jung HJ, Kwan TH. Moleculer mechanisms regulating aquaporin-2 in kidney collecting duct. Am J Physiol Renal Physiol. 2016 Dec 1;311(6): F1318-F1328

7. Nielsen S, Frokiaer J, Marples D, Kwon TH, Agre P, Knepper MA. Aquaporins in the kidney: from molecules to medicine. Physiol Rev. 2002;82:205–44.

8. Warren G.H. Control of urinary drainage and voiding. Clinical journal of american society of nephrology. 2015 Mar 6; 10(3):480-492.

9. Anderson K.E, Arner A. Urinary bladder contraction and relaxation: physiology and pathophysiology. Physiological Reviews. 2004 Jul; 84(3):935-86

10. Fry CH, Vahabi B. The Role Of The Mucosa İn Normal And Abnormal Bladder Function. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2016 Oct; 119 (Suppl 3):57-62

11. Guyton ve Hall. Tıbbi Fizyoloji. Çeviri 11. Baskı. 2006; 311-312

12. Sugaya K, Nishijima S, Miyazato M, Ogava Y. Central nervous control of micturition and urine storage. Journal of smooth muscle research. 2015 Jun;41(3):117-32

13. De Groat WC, Griffiths D, Yoshimura N. Neural Control Of The Lower Urinary Tract. Compr Physiol. 2015 Jan;5(1):327-96

14. Sivrioğlu K. Mesane Anatomisi Ve İşeme Anatomisi. Türk Fiz Tıp Rehab Derg 2005;51 (Özel Ek A):A16-A18

15. Tekin A. İşeme Fizyolojisi Ve İşemenin Nöral Kontrolü. Çocuk Cerrahisi Dergisi 2016,30(Ek Sayı 6):545-549

16. Kroll P. Pharmacotherapy For Pediatric Neurogenic Bladder. Paediatr Drugs 2017 Oct; 19(5):463-478

17. Ruhston HG. Wettind And Functional Voiding Disorders. Urologic Clinics Of North America. 1995; 22(1):75-93

18. Şenol S, Karacan E. Çocukların gece ve gündüz işemeleri. Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi.1997; 6(4): 126-128

19. Ünal S, Akbulut A, Karabacak OR. Çocuklarda İdrar Kaçırma: Nörolojik Olmayan Nedenler. Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi. 1997; 6(4): 130-132

20. Guyton AC, Hall JE. Human Physiology and Mechanisms of the Bladder, Micturation. Human Physiology and Mechanisms of Disease, 6 th ed. Philadelphia: N.B. Saunders Co 1997; p. 264- 5.

21. Fowler CJ, Griffiths D, De Groat WC. The neural control of micturition. Nat Rev Neurosci. 2008 Jun;9(6):453–466

22. Norgaard JP, Van Gool JD, Hjalmas K, Djurhuus JC, Hellstrom AL. Standardization and definitions in lower urinary tract dysfunction in children. İnternational children's continence society. Br J Urol 1998 May;81:1-16.

23. Birdal S, Dogangun B. Behavioural problems in children with enuresis. Türk Pediatr Arşivi. 2016 Sep;51(3):142-7.

24. Tekgul S, Nijman RJ, Hoebeke P, Canning D, Bower W, von Gontard A. Diagnosis and management of urinary incontinence in childhood. 4th International Consultation on Incontinence, Committee 9. Health Publication Ltd; 2009.

25. Gomez Rincon M, Leslie SW, Waheed A. Nocturnal Enuresis. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2019 Jan-.2019 Jul 29.

26. Büyükbesnili Z. Enuresis. Çocuk Cerrahisi Dergisi. 2016; 30 (ek sayı 6): 575-582

27. Salmon MA. An historical account of nocturnal enuresis and its treatment. Proc R Soc Med. 1975 Jul;68:443–5

28. Tek M, Erdem E. Advances in the management of enuresis. F1000Prime Rep.2014 Nov 4;6:106

29. Ünal F. Enürezis Nokturna. Katkı Pediatri Dergisi.1996;17(5):789-802

30. Alon US. Nocturnal Enuresis. Pediatric Nephrology 1995;9(3):94-103

31. Wille S. Primary nocturnal enuresis in children. Background and treatment. Scand J Urol Nephrol Suppl 1994;156:1-48.

32.Yeung CK, Sreedhar B, Sihoe JD, Sit FK, Lau J. Differences in characteristics of nocturnal enuresis between children and adolescents: a critical appraisal from a large epidemiological study. BJU Int. 2006 May; 97(5): 1069-73

33.Sousa AS, Veiga ML, Braga AA, Carvalho MC, Barroso U Jr. Enuresis and overactive bladder in children: what is the relationship between these two conditions? Int Braz J Urol. 2016 Jul-Aug; 42(4): 798-802

34.Gür E, Turhan P, Can G, Akkus S, Sever L ve ark. Enüresis: prevalence, risc factors and urinary pathology among school children in İstanbul, Turkey. Pediatr Int. 2004 Feb; 46(1): 58-63

35. Savaşer S, Kızılkaya Beji N, Aslan E, Gözen D. The prevalence of diurnal urinary incontinence and enuresis and quality of life: sample of school. Urol J. 2018 Jul 10;15(4):173-179

36. Ozden C, Ozdal OL, Altınova S, Oğuzulgen I, Urgancıoglu G, Memiş A. Prevalance and associated factors of enüresis in turkish children. İnt Braz J Urol. 2007 Mar-Apr;33(2):216-22

37.Güneş A, Güneş G, Açık Y, Akıllı A. The Epidemiology And Factors Associated With Nokturnal Enürezis Among Boarding And Daytime School Children İn Southeast Of Turkey: A Cross Sectional Study. BMC Public Health. 2009 Sep 22;9;357

38. Fockema MW, Candy GP, Kruger D, Haffejee M. Enuresis in South african children: prevalence, associated factors and parental perception of treatment. BJU Int. 2012 Dec;110(11 Pt C):E1114-20

39. Kajiwara M, Inoue K, Kato M, Usui A, Kurihara M, Usui T. Nocturnal Enurezis And Overactive Bladder İn Children: An Epidemiological Study.Int J Urol 2006 Jan;13(1):36-41

40. Thiedke CC. Nocturnal Enürezis. Am Fam Physician. 2003 Apr 1;67(7) 1499-506

41. Balaban M, Aktas A, Sevınc C, Yücetaş U. The Relationship Of enuresis Nocturna And Adenoid Hypertrophy. Arch Ital Urol Androl .2016 Jul 4;88(2):111-4

42. Chan IHY, Wong KKY. Common Urological Problems İn Children: Primary Nocturnal Enuresis. Hong Kong Med J. 2019 Aug ; 25(4):305-11

43. Graham KM, Levy JB. Enuresis. Pediatr Rev. 2009 May;30(5):165-72; quiz 173.

44. Butler RJ, Heron J. The prevalence of infrequent bedwetting and nocturnal enuresis in childhood. Scand J Urol Nephrol 2008;42(3):257-264

45. Önem K. Enürezis: Tanım ve Epidemiyoloji. Turk Urol Sem. 2011;2:31-4

46. Vasconcelos MMA, East P, Blanco E, Lukacz ES, Caballero G, Lozoff B, Gahagan S. Early Behavioral Risks of Childhood and Adolescent Daytime Urinary Incontinence and Nocturnal Enuresis. J Dev Behav Pediatr. 2017 Nov/Dec;38(9):736-742.

47. Miller K, Atkin B, Moody ML. Drug Therapy for nocturnal enuresis.Current treatment Recommendations. Drugs 1992 jul;44(1):47- 56.

48. Starfield B. Functional bladder capacity in enuretic and nonenuretic children. J Pediatr. 1967 May;39:87–93.

49. Hansen A, Hansen B, Dahm TL. Urinary tract infection, day wetting and other voiding symptoms in seven and eight year old Danish children. Acta Paediatr. 1997;86:1345–9.

50. Wolfish NM. Enuresis: A maturational lag. Paediatr Child Health. 2002 Oct; 7(8): 521–523.

51. Vermandel A, de Wachter S, Wyndaele JJ. Refractory monosymptomatic nocturnal enuresis: a combined stepwise approach in childhood and follow-up into adolescence, with attention to the clinical value of normalizing bladder capacity. BJU Int. 2005 Sep;96(4):629-33

52. Rittig S, Knudsen UB, Nørgaard JP, Pedersen EB, Djurhuus JC. Abnormal diurnal rhythm of plasma vasopressin and urinary output in patients with enuresis. Am J Physiol. 1989;256:F664–F671

53. Norgaard JP, Pedersen EB, Djurhuus JC. Diurnal anti-diuretic-hormone levels in enuretics. J Urol. 1985 Nov;134(5):1029-31.

54. Soster LA, Alves RC, Fagundes SN, Lebl A, Garzon E, Koch VH, Ferri R, Bruni O. Non-REM Sleep Instability in Children With Primary Monosymptomatic Sleep Enuresis. J Clin Sleep Med. 2017 Oct 15;13(10):1163-1170.

55. Reimäo R, Pachelli LC, Carneiro R, Faiwichow G. Primary sleep enuresis in childhood. Polysomnography evidences of sleep stage and time modulation. Arq Neuropsiquiatr. 1993 mar;51(1):41–45.

56. Cohen-Zrubavel V, Kushnir B, Kushnir J, Sadeh A. Sleep and sleepiness in children with nocturnal enuresis. Sleep. 2011 Feb 1;34(2):191-4.

57. Kawauchi A, Imada N, Tanaka Y, Minami M, Watanabe H, Shirakawa S. Changes in the structure of sleep spindles and delta waves on electroencephalography in patients with nocturnal enuresis. Br J Urol 1998 may ;81(3):72-5.

58. Watanabe H, Kawauchi A, Kitamori T, Azuma Y. Treatment system for nocturnal enuresis according to an original classification system. Eur Urol 1994;25(1):43-50

59. Kaditis AG, Alonso Alvarez ML, Boudewyns A, Alexopoulos EI, Ersu R, Joosten K, et al.Obstructive sleep disordered breathing in 2- to 18-year-old children: diagnosis and management. Eur Respir J. 2016 jan;47(1):69–94.

60. Zaffanello M, Piacentini G, Lippi G, Fanos V, Gasperi E, Nosetti L. Obstructive sleep-disordered breathing, enuresis and combined disorders in children: chance or related association? Swiss Med Wkly. 2017 Feb 3; 147:w14400.

61. Schechter MS. Section on Pediatric Pulmonology, Subcommittee on Obstructive Sleep Apnea Syndrome. Technical report: diagnosis and management of childhood obstructive sleep apnea syndrome. Pediatrics. 2002 Apr;109(4):e69.

62. Schmitt BD. Nocturnal enuresis. Pediatr Rev. 1997 jun;18(6):183-90;quiz 91.

63. Cendron M. Primary nocturnal enuresis: current. Am Fam Physician.1999 mar 1;59(5):1205-14, 1219-20

64. Fritz G, Rockney R, Bernet W, Arnold V, Beitchman J, Benson RS, Bukstein O. Practice parameter for the assessment and treatment of children and adolescents with enuresis . J Am Acad Child Adolesc Psychiatry. 2004 Dec;43(12):1540-50.

65. Bosson S, Holland PC, Barrow S. A visual motor psychological test as a predictor to treatment in nocturnal enuresis. Arch Dis Child. 2002 Sep; 87(3):188-91.

66. Mark SD, Frank JD. Nocturnal enuresis. Br J Urol. 1995 Apr;75(4):427-34.

67. Miller K, Klauber GT. Desmopressin Acetate in children with severe primary nocturnal enüresis. Clin Ther. 1990 jul-aug;12(4):357-66.

68. Järvelin MR, Moilanen I, Kangas P, Moring K, Vikeväinen-Tervonen L, Huttunen NP, Seppänen J. Aetiological and precipitating factors for childhood enuresis. Acta Paediatr Scand. 1991 Mar; 80(3):361-9.

69. Baeyens D, Roeyers H, Vande Walle J, Hoebeke P. Behavioural problems and attention-deficit hyperactivity disorder in children with enuresis: a literature review. Eur J Pediatr. 2005 Nov;164(11):665-72

70. Niemczyk J, Equit M, Hoffmann L, von Gontard A. Incontinence in children with treated attention-deficit/hyperactivity disorder. J Pediatr Urol. 2015 Jun;11(3):141.e1-6.

71. Tajima-Pozo K, Ruiz-Manrique G, Montañes F. Treating enuresis in a patient with ADHD: application of a novel behavioural modification therapy. BMJ Case Rep. 2014 Jun 10;2014.

72. Eller DA, Austin PF, Tanguay S, Homsy YL. Daytime functional bladder capacity as a predictor of response to desmopressin in monosymptomatic nocturnal enuresis. Eur Urol. 1998;33(3):25-9

73. Ferrara P, Del Volgo V, Romano V, Scarpelli V, De Gara L, Miggiano GA. Combined Dietary Recommendations, Desmopressin, and Behavioral Interventions May Be Effective First-Line Treatment in Resolution of Enuresis. Urol J. 2015 Sep 4;12(4):2228-32

74. Domínguez-Ortega G, Borrelli O, Meyer R, Dziubak R, De Koker C, Godwin H, Fleming C, Thapar N, Elawad M, Kiparissi F, Fox AT, Shah N. Extraintestinal manifestations in children with gastrointestinal food allergy. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2014 Aug;59(2):210-4.

75. Egger J, Carter CH, Soothill JF, Wilson J. Effect of diet treatment on enuresis in children with migraine or hyperkinetic behavior. Clin Pediatr (Phila). 1992 May;31(5):302-7.

76. Jalkut MW, Lerman SE, Churchill BM. Enuresis. Pediatr Clin North Am. 2001 Dec;48(6):1461-88

77. Bower WF, Moore KH, Shepherd RB, Adams RD. The epidemiology of childhood enuresis in Australia. Br J Urol. 1996 Oct;78(4):602-6

78. Schmitt BD. Toilet training basics. Your Child Healthy, 1 th ed. New York: Bantam Books, 1994: p. 333-7.

79. Özdirim E, Saatçi Ü, Tekgül S, Ünal F. Enürezis. Hacettepe Tıp Dergisi 1997;28(3):69-73.

80. Robson WL, Leung AK, Van Howe R. Primary and secondary nocturnal enuresis: similarities in presentation. Pediatrics. 2005;115(4):956–959

81. Von Gontard A, Schaumburg H, Hollmann E, Eiberg H, Rittig S. The genetics of enuresis: a review. J Urol. 2001 Dec;166(6):2438-43.

82. Loeys B, Hoebeke P, Raes A, Messiaen L, De Paepe A, Vande Walle J. Does monosymptomatic enuresis exist? A molecular genetic exploration of 32 families with enuresis/incontinence. BJU Int. 2002 Jul;90(1):76-83

83. Eiberg H, Berendt I, Mohr J. Assignment of dominant inherited nocturnal enuresis (ENUR1) to chromosome 13q. Nat Genet 1995; 10: 354– 6

84. Dolgun G, Savaser S, Balci S, Yazici S. Prevalence of nocturnal enuresis and related factors in children aged 5-13 in istanbul. Iran J Pediatr. 2012 Jun;22(2):205-12.

85. Ulman i. Primer Nokturnal Enüreziste Güncel Yaklaşımlar. Er-Kim İlaç Konferans Sunumu. 1999.

86. Kiddoo D. Nocturnal enuresis. BMJ Clin Evid. 2007 Oct 1;2007. pii: 0305.

87. Proserpio P, Terzaghi M, Manni R, Nobili L. Drugs Used in Parasomnia. Sleep Med Clin. 2018 Jun;13(2):191-202

88. Tsai JD, Chen HJ, Ku MS, Chen SM, Hsu CC, Tung MC, Lin CC, Chang HY, Sheu JN. Association between allergic disease, sleep-disordered breathing, and childhood nocturnal enuresis: a population-based case-control study. Pediatr. Nephrol. 2017 Dec;32(12):2293-2301.

89. Reddy NM, Malve H, Nerli R, Venkatesh P, Agarwal I, Rege V. Nocturnal Enuresis in India: Are We Diagnosing and Managing Correctly? Indian J Nephrol. 2017 Nov-Dec;27(6):417-426.

90. Charalampous S, Printza N, Hashim H, Bantouraki M, Rompis V, Ioannidis E, et al. Bladder wall thickness and urodynamic correlation in children with primary nocturnal enuresis. J Pediatr Urol. 2013 Jun;9(3):334–8.

91. Zderic SA, Weiss DA. Voiding dysfunction: What can radiologists tell patients and pediatric urologists? AJR Am J Roentgenol.2015;205:W532–41.

92. Gontard AV, Kuwertz-Bröking E. The Diagnosis and Treatment of Enuresis and Functional Daytime Urinary Incontinence. Dtsch Arztebl Int. 2019 Apr 19;116(16):279-285.

93. Kroll P, Zachwieja J. A system for the treatment of nocturnal enuresis in children. Minerva Urol Nefrol. 2017 Jun;69(3):293-299.

94. Ma Y, Liu X, Shen Y. Behavioral factors for predicting severity of enuresis and treatment responses in different compliance groups receiving behavioral therapy. Pak J Med Sci. 2017 Jul-Aug;33(4):953-958

95. Bak M, Bıcılıoğlu Y, Serdaroğlu E. Monosemptomatik nokturnal enürezis ve tedavisi. Turkiye klinikleri J Pediatr. 2007;16(2)104-17.

96. Shaffer D. Enuresis. In:Rutter M, Taylor E, Hersov L (ed). Child and Adolescent Psychiatry, London: Blackwell Science,1994;505-519

97. Atar M, Sancaktutar AA. Enürezis Nokturnanın Tedavisinde İlaç Dışı Yaklaşımlar. Turk Urol Sem. 2011;2:50-4

98. Glazener CM, Evans JH. Simple behavioural and physical interventions for nocturnal enuresis in children. Cochrane Database Syst Rev. 2004;(2):CD003637

99. Hägglöf B, Andrén O, Bergström E, Marklund L, Wendelius M. Self-esteem in children with nocturnal enuresis and urinary incontinence: improvement of self-esteem after treatment. Eur Urol. 1998;33(3):16-9.

100. De Wachter S, Vermandel A, De Moerloose K, Wyndaele JJ. Value of increase in bladder capacity in treatment of refractory monosymptomatic nocturnal enuresis in children. Urology. 2002 Dec;60(6):1090-4.

101. Glazener CM, Evans JH, Peto RE. Alarm interventions for nocturnal enuresis in children. Cochrane Database Syst Rev 2005;(2):CD002911.

102. Riccabona M. Enuresis: Update in diagnosis and therapy. In Pediatric Urology Course Book, 2003;:315-20.

103. Neveus T, Eggert P, Evans J, Macedo A, Rittig S, Tekgül S et al. Evaluation and treatment for monosymptomatic enuresis: A standardization document from the international children's continence society. J Urol 2010;183:441-7.

104. Hjalmas K, Arnold T, Bower W, Caione P, Chiozza LM, von Gontard A, Han SW, Husman DA, Kawauchi A, Lackgren G, Lottmann H, Mark S, Rittig S, Robson

L, Walle JV, Yeung CK. Nocturnal enuresis: an international evidence based management strategy. J Urol 2004;171(6 Pt 2):2545-61.

105. Ergin G, Ebiloğlu T, Kibar Y. Birinci basamakta enürezis nokturnada alarm tedavisi. Smyrna Tıp Dergisi. 2014;57-60

106. José Murillo B. Netto, Atila Victal Rondon, George Rafael Martins de Lima, Miguel Zerati, Filho, Edison Daniel Schneider-Monteiro et al. . Brazilian consensus in enuresis–recomendations for clinical practice. Int Braz J Urol. 2019 Sep-Dec; 45(5): 889–900.

107. Carol Chiung-Hui Peng, Stephen Shei-Dei Yang, Paul F. Austin, Shang-Jen Chang. Systematic Review and Meta-analysis of Alarm versus Desmopressin Therapy for Pediatric Monosymptomatic Enuresis Sci Rep. 2018; 8: 16755.

108. Neveus T, Lackgren G, Tuvemo T, Hetta J, Hjalmas K, Stenberg A. Scand J. Enuresis: Background and treatment. Urol Nephrol suppl 2000;206:1-44.

109. Akbal C, Ekici S, Erkan I, Tekgül S. Intermittent oral desmopresin theraphy for monosymptomatic primary nocturnal enuresis. J Urol 2004;171:2603-6.

110. Kehrel DM, Harms TW. Structrured desmopresin withdrawal improves response and treatment outcome for monosymptomatic enuretic children. J Urol 2009;182:2022-7.

111. Akman RY. Nokturnal Enürezis. Türk Ped Arş 2012; 47: 78-83

112. Maternik M, Krzeminska K, Zurowska A. The management of childhood urinary incontinence . Pediatr Nephrol. 2015; 30(1): 41–50.

113. Evans JH. Evidence based management of nocturnal enuresis. BMJ. 2001 Nov 17; 323(7322): 1167–1169.

114. Kaneko K, Fujinaga S, Ohtomo Y, Shimizu T, Yamashiro Y. Combined pharmacotherapy for nocturnal enuresis. Pediatr Nephrol. 2001 Aug;16(8):662-4.

115.Ertan P, Karaboğa B. Monosemptomatik nokturnal enürezis. Dicle Tıp Dergisi. 2012;39(1):145-152

116. Ghasemi K, Esteghamati M, Mohammadzadeh M, Zare S. Desmopressin versus Oxybutynin for Nocturnal Enuresis in Children in Bandar Abbas: A Randomized Clinical Trial. Electron Physician. 2016 Mar; 8(3): 2187–2193.

117. Neveus T, Lackgren G, Tuvemo T, Olsson U, Stenberg A. Desmopresin resistant enuresis: pathogenetic and therapeutic considerations. J Urol 1999;162:2136–40.

118. Kanematsu A. Translational Research for Pediatric Lower Urinary Tract Dysfunction. Int Neurourol J. 2016 Nov; 20(Suppl 2): S105–111.

119. Eiberg H, Shaumburg HL, Von Gontard A, Rittig S. Linkage study of a large Danish 4-generation family with urge incontinence and nocturnal enuresis. J Urol. 2001 Dec;166(6):2401-3.

120. Arnell H, Hjälmås K , Jägervall M, Läckgren G , Stenberg A, Bengtsson B et al. The genetics of primary nocturnal enuresis: inheritance and suggestion of a second major gene on chromosome 12q. J Med Genet. 1997 May;34(5):360-5.

121. Von Gontard A, Heron J, Joinson C. Family history of nocturnal enuresis and urinary incontinence: results from a large epidemiological study. J Urol. 2011 Jun;185(6):2303-6.

122. Penbegül N, Çelik H, Palancı Y, Yıldırım K, Atar M, Hatipoğlu NK et al, Diyarbakır ili bir grup okul çağı çocuğunda enürezis nokturna prevelansı. Turkish Journal of Urology 2013; 39(2): 101-5

123. Verkman AS, Mitra AK. Structure and function of aquaporin water channels. Am J Physiol Renal Physiol. 2000 Jan;278(1):F13-28.

124. Soylu A, Kavukçu S. Böbrek Su Kanalları. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi/Office Journal of the Turkish Nephrology, Association 2000:1:4-7

125. Bezamat M, Cunha EJ, Modesto AM, Vieira AR, Taboas JM. Aquaporin locus (12q13.12) might contribute to susceptibility of temporomandibular joint disorder associated with periodontitis. PLoS One. 2020; 15(3): e0229245.

126. Moeller HB, Rittig S, Fenton RA. Nephrogenic diabetes insipidus: essential insights into the molecular background and potential therapies for treatment. Endocr Rev. 2013;34:278-301.

127. Bichet DG, El Tarazi A, Matar J, Lussier Y, Arthus MF, Lonergan M et al. Aquaporin-2: new mutations responsible for autosomal-recessive nephrogenic diabetes insipidus-update and epidemiology. Clin Kidney J. 2012 Jun;5(3):195-202.

128. Ranadive SA, Rosenthal SM. Pediatric Disorders of Water Balance. Pediatr Clin North Am. 2011 Oct; 58(5): 1271–xii.

129. Yang H, Yan K, Wang L, Gong F, Jin Z, Zhu H. Autosomal dominant familial neurohypophyseal diabetes insipidus caused by a novel nonsense mutation in AVP-NPII gene. Exp Ther Med. 2019 Aug;18(2):1309-1314.

130. Park KS, Yoo KY. Role of vasopressin in current anesthetic practice. Korean J Anesthesiol. 2017 Jun; 70(3): 245–257.

131. Ranieri M, Di Mise A, Tamma G, Valenti G. Vasopressin-aquaporin-2 pathway: recent advances in understanding water balance disorders. F1000Res. 2019 Feb 4;8:F1000 Faculty Rev-149.

132. Russell TA, Ito M, Ito M, Yu RN, Martinson FA, Weiss J, Jameson JL. A murine model of autosomal dominant neurohypophyseal diabetes insipidus reveal progressive loss of vasopressin-producing neurons. J Clin Invest. 2003 Dec;112(11):1697-706.

133. Ozkan S, Durukan E, Iseri E, Gürocak S, Maral I, et al. Prevalence and risk factors of monosymptomatic nocturnal enuresis in Turkish children. Indian J Urol. 2010;26:200–205.

134. Von Gontard A, Mauer-Mucke K, Plück J, Berner W, Lehmkuhl G. Clinical behavioral problems in day- and night-wetting children. Pediatr Nephrol. 1999;13:662–667.

135. Sherah K, Elsharief M, Barkat N, Jafery A. Prevalence of nocturnal enuresis in school-age children in Saudi Arabia. Int J Med Develop Ctries. 2019;3:669–675.

136. Ouedraogo A, Kere M, Ouedraogo TL, Jesu F. Epidemiology of enuresis in children and adolescents aged 5-16 years in Ouagadougou (Burkina Faso) (Article in French). Arch Pediatr. 1997;4:947–951

137. De Sousa A, Kapoor H, Jagtap J, Sen M. Prevalence and factors affecting enuresis amongst primary school children. Indian J Urol. 2007;23:354–357.

138. Makrani AH, Moosazadeh M, Nasehi MM, Abedi G, Afshari M, et al. Prevalence of enuresis and its related factors among children in Iran: a systematic review and meta-analysis. Int J Pediatr. 2015;3:995–1004.

139. Gumus B, Vurgun N, Lekili M, Işcan A, Muezzinoglu T, Buyuksu C. Prevalence of nocturnal enuresis and accompanying factors in children aged 7-11 years in Turkey. Acta Paediatr. 1999;88:1369–1372.

140. Alhifthy EH, Habib L, Abu Al-Makarem A, AlGhamdi M, Alsultan D, et al. Prevalence of Nocturnal Enuresis among Saudi Children Population. Cureus. 2020 Jan 15;12(1):e6662.

141. Nappo S, Del Gado R, Chiozza ML, Biraghi M, Ferrara P, Caione P. Nocturnal enuresis in the adolescent: a neglected problem. BJU Int. 2002;90:912–917.

142. Bilal M, Haseeb A, Saeed A, Saeed A, Sarwar T, et al. Prevalence of Nocturnal Enuresis Among Children Dwelling in Rural Areas of Sindh. Cureus. 2020 Aug 6;12(8):e9590.

143. Kessel EM, Allmann AE, Goldstein BL, Finsaas M, Dougherty LR, et al. Predictors and Outcomes of Childhood Primary Enuresis. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry. 2017 Mar;56(3):250-257

144. Bakhtiar K, Pournia Y, Ebrahimzadeh F, Farhadi A, Shafizadeh F, et al. Prevalence of nocturnal enuresis and its associated factors in primary school and preschool children of Khorramabad in 2013. Int J Pediatr. 2014; 2014: 120686

145. Sarici H, Telli O, Ozgur BC, Demirbas A, Ozgur S, Karagoz MA. Prevalence of nocturnal enuresis and its influence on quality of life in school-aged children. J Pediatr Urol. 2016 Jun;12(3):159.e1-6.

146. Top FÜ, Alemdar DK. 7-11 yaş arası çocuklarda enürezis sıklığı ve risk faktörleri. Gümüşhane üniversitesi sağlık bilimleri dergisi. 2014;3 (4):991-1004

147. Jurkovic M, Tomaskovic I, Tomaskovic M, Smital Zore B, Pavic I, et al. Refugee Status as a Possible Risk Factor for Childhood Enuresis. Int J Environ Res Public Health. 2019 Apr 11;16(7):1293.

148. Bozlu M, Çayan S, Doruk E, Canpolat B, Akbay E. Çocukluk çağı ve adölesan yaş grubunda nokturnal ve diürnal enürezis epidemiolojisi. Türk üroloji dergisi. 2002;28(1):70-75

149. Yanovski JA. Pediatric obesity. An introduction. Appetite. 2015;93:3–12.

150. Zhang A, Li S, Zhang Y, Jiang F, Jin X, et al. Nocturnal enuresis in obese children: a nation-wide epidemiological study from China. Sci Rep. 2019 Jun 10;9(1):8414

151. Erdem E, Lin A, Kogan BA, Feustel PJ. Association of elimination dysfunction and body mass index. J Pediatr Urol. 2006 Aug; 2(4):364-7.

152. Ma Y, Shen Y, Liu X. Association between enuresis and obesity in children with primary monosymptomatic nocturnal enuresis. Int Braz J Urol. 2019 Jul-Aug;45(4):790-797.

153. Marples D, Frøkiaer J, Dørup J, Knepper MA, Nielsen S. Hypokalemia-induced downregulation of aquaporin-2 water channel expression in rat kidney medulla and cortex. J Clin Invest. 1996 Apr 15; 97(8):1960-8.

154. Szymanik-Grzelak H, Daniel MU, Skrzypczyk P, Kotuła I, Pańczyk-Tomaszewska M. Is copeptin a reliable biomarker of primary monosymptomatic nocturnal enuresis? Cent Eur J Immunol. 2019;44(1):38-44.

155. Kahriman İ, Mumcu HK. 7–12 Yaş Çocuklarda Enürezis Noktürna Sıklığı ve Etkileyen Etmenler. Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi. 2011;20(5):195-201

156. Şahin BB, Dündar PE. Manisa'da 5-14 Yaş Arası Çocuklarda Enürezis Nokturna Sıklığı ve İlişkili Faktörler. CBU-SBED. 2020;7(1):41-48

157. Khazaie H, Eghbalı F, Amirian H, Moradi MR, Ghadami MR. Risk Factors of Nocturnal Enuresis in Children with Attention Deficit Hyperactivity Disorder. Shanghai Arch Psychiatry. 2018 Feb 25; 30(1): 20–26.

158. Choudhary B, Patil R, Bhatt GC, Pakhare AP, Goyal A, et al. Association of Sleep Disordered Breathing with Mono-Symptomatic Nocturnal Enuresis: A Study among School Children of Central India. PLoS One. 2016 May 18;11(5):e0155808.

159. Tai HL, Chang YJ, Chang SC, Chen GD, Chang CP, Chou MC. The epidemiology and factors associated with nocturnal enuresis and its severity in primary school children in Taiwan. Acta Paediatr. 2007;96:242–5.

160. Doganer YC, Aydogan U, Ongel K, Sari O, Koc B, Saglam K. The Prevalence and Sociodemographic Risk Factors of Enuresis Nocturna among Elementary School-age Children. J Family Med Prim Care. 2015 Jan-Mar; 4(1): 39–44.

161. Schlomer B, Rodriguez E, Weiss D, Copp H. Parental beliefs about nocturnal enuresis causes, treatments, and the need to seek professional medical care. J Pediatr Urol. 2013;9:1043–1048

162. Uluocak N, Erdemir F. Enürezis nokturna: etiyopatogenez. Turk Urol Sem. 2011;2:35-40

163. Özgürhan G, Sezgin B, Benzer M, Korğalı EÜ, Samancı N. Enürezis tanısı alan çocuklarda sosyodemografik faktörlerin değerlendirilmesi. J Kartal TR. 2013;24(2)93-96

164. Iduoriyekemwen NJ, Ibadin MO, Abiodun PO. Survey of childhood enuresis in the Ehor community, the EDO State, Nigeria. Saudi J Kidney Dis Transpl. 2006 Jun;17(2):177-82.

165. Ergüven M, Çelik Y, Deveci M, Yıldız N. Primer enürezis nokturnada etiyolojik risk faktörleri. Türk Pediatri Arşivi 2004; 39: 83-7

166. Ranadive SA, Rosenthal SM. Pediatric Disorders of Water Balance. Endocrinol Metab Clin North Am. 2009 Dec; 38(4): 663–672.

167. Kozono D, Yasui M, King LS, Agre P. Aquaporin water channels: atomic structure molecular dynamics meet clinical medicine.J Clin Invest. 2002 Jun 1; 109(11): 1395–1399.

168. Frøkiaer J, Nielsen S. Do aquaporins have a role in nocturnal enuresis? Scand J Urol Nephrol Suppl. 1997;183:31-2.

169. Deen PMT, Dahl N, Caplan MJ. The aquaporin-2 water channel in autosomal dominant primary nocturnal enuresis. J Urol. 2002 Mar;167(3):1447-50.

170. Yamashita S, Hata A, Usui T, Oda H, Hijikata A, Shirai T, Kaneko N, Hata D. Novel AVPR2 mutation causing partial nephrogenic diabetes insipidus in a Japanese family. J Pediatr Endocrinol Metab. 2016 May 1;29(5):591-6.

171. Peces R, Mena R, Peces C, Santos-Simarro F, Fernández L, Afonso S, Lapunzina P, Selgas R, Nevado J. Severe congenital nephrogenic diabetes insipidus in a compound heterozygote with a new large deletion of the AQP2 gene. A case report. Mol Genet Genomic Med. 2019 Apr;7(4):e00568.

8.EKLER

EK-1: Hasta Ve Kontrol Grubunda Tespit Edilen Mutasyonlar

Hasta Numarası	AQP2 1.Ekzon	AQP2 2.Ekzon	AQP2 3.Ekzon	AQP2 4.Ekzon	AVP 1.Ekzon	AVP 2.Ekzon	AVP 3.Ekzon
1	c.360+3G>A Heterozigot	S167=c.501T>C Heterozigot	Normal	c.816+20C>A Homozigot	Normal	Normal	Normal
2	Normal	S167=c.501T>C Heterozigot	Normal	c.816+20C>A Homozigot	Normal	Normal	Normal
3	Normal	S167=c.501T>C Homozigot	Normal	c.816+20C>A Homozigot	Normal	Normal	Normal
4	Normal	S167=c.501T>C Homozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
5	c.360+3G>A Homozigot	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
6	Normal	S167=c.501T>C Homozigot	Normal	c.816+20C>A Homozigot	Normal	Normal	Normal
7	c.360+3G>A Heterozigot	S167=c.501T>C Heterozigot	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
8	Normal	S167=c.501T>C Homozigot	Normal	c.816+20C>A Homozigot	Normal	Normal	Normal
9	c.360+3G>A Heterozigot	S167=c.501T>C Heterozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
10	c.360+3G>A Heterozigot	S167=c.501T>C Heterozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
11	c.360+3G>A Heterozigot	S167=c.501T>C Heterozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
12	Normal	S167=c.501T>C Homozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
13	c.360+3G>A Homozigot	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
14	Normal	S167=c.501T>C Homozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
15	c.360+3G>A Homozigot	S167=c.501T>C Heterozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
16	c.360+3G>A Heterozigot	S167=c.501T>C Heterozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
17	Normal	S167=c.501T>C Heterozigot	Normal	c.816+20C>A Homozigot	Normal	Normal	Normal
18	Normal	S167=c.501T>C Homozigot	Normal	c.816+20C>A Homozigot	Normal	Normal	Normal
19	V13=c.39G>A Heterozigot	S167=c.501T>C Heterozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
20	Normal	S167=c.501T>C Homozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
21	c.360+3G>A Heterozigot	S167=c.501T>C Heterozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
22	Normal	S167=c.501T>C Homozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
23	c.360+3G>A Heterozigot	S167=c.501T>C Heterozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
24	Normal	S167=c.501T>C Heterozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
25	Normal	S167=c.501T>C Homozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
26	c.360+3G>A Heterozigot	S167=c.501T>C Heterozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
27	Normal	S167=c.501T>C Heterozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
28	c.360+3G>A Heterozigot	S167=c.501T>C Heterozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
29	Normal	S167=c.501T>C Homozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
30	Normal	S167=c.501T>C Homozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	c.322+2T>G Homozigot rs1568733815	Normal
31	Normal	S167=c.501T>C Homozigot	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
32	c.360+3G>A Heterozigot	S167=c.501T>C Heterozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
33	c.360+3G>A Heterozigot	S167=c.501T>C Heterozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
34	Normal	S167=c.501T>C Homozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
35	Normal	S167=c.501T>C Homozigot	Normal	c.816+20C>A Homozigot	Normal	Normal	Normal
36	Normal	S167=c.501T>C Homozigot	Normal	c.816+20C>A Homozigot	Normal	Normal	Normal
37	Normal	S167=c.501T>C Homozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
38	Normal	S167=c.501T>C Homozigot	Normal	c.816+20C>A Homozigot	Normal	Normal	Normal
39	Normal	S167=c.501T>C Homozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
40	Normal	S167=c.501T>C Homozigot	Normal	c.816+20C>A Homozigot	Normal	Normal	Normal
K-1	Normal	S167=c.501T>C Homozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
K-2	c.360+3G>A Heterozigot rs3741559	S167=c.501T>C Heterozigot rs426496	Normal	Normal	Normal	R51H c.152G>A Heterozigot	Normal
K-3	V13=c.39G>A Heterozigot rs61733029, c.360+3G>A Heterozigot	S167=c.501T>C Heterozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
K-4	Normal	S167=c.501T>C Heterozigot	Normal	c.816+20C>A Homozigot	Normal	Normal	Normal
K-5	c.360+3G>A Heterozigot	S167=c.501T>C Heterozigot	Normal	c.816+20C>A Homozigot	Normal	Normal	Normal
K-6	c.360+3G>A Heterozigot	S167=c.501T>C Heterozigot	Normal	c.816+20C>A Heterozigot	Normal	Normal	Normal
K-7	V13=c.39G>A Heterozigot	S167=c.501T>C Heterozigot	Normal	c.816+20C>A Homozigot	Normal	Normal	Normal
K-8	c.360+3G>A Heterozigot	S167=c.501T>C Heterozigot	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
K-9	V13=c.39G>A Heterozigot	S167=c.501T>C Heterozigot	Normal	c.816+20C>A Homozigot	Normal	Normal	Normal
K-10	Normal	S167=c.501T>C Homozigot	Normal	c.816+20C>A Homozigot	Normal	Normal	Normal