

**DİYABETİK VE DİYABETİK OLMAYAN KRONİK BÖBREK  
YETMEZLİKLİ HEMODİYALİZ HASTALARINDA GENETİK  
HASARIN GENOTOKSİSİTE TESTLERİYLE BELİRLENMESİ**

**Sevcan MAMUR**

**DOKTORA TEZİ**

**BİYOLOJİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**OCAK 2014**

**ANKARA**

Sevcan MAMUR tarafından hazırlanan “DİYABETİK VE DİYABETİK OLMAYAN KRONİK BÖBREK YETMEZLİKLİ HEMODİYALİZ HASTALARINDA GENETİK HASARIN GENOTOKSİSİTE TESTLERİYLE BELİRLENMESİ” adlı bu tezin Doktora tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Deniz YÜZBAŞIOĞLU .....  
Tez Danışmanı, Biyoloji Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Kadriye ALTOK .....  
Nefroloji Anabilim Dalı, G.Ü.

Prof. Dr. Deniz YÜZBAŞIOĞLU .....  
Biyoloji Anabilim Dalı, G.Ü.

Prof. Dr. Fatma ÜNAL .....  
Biyoloji Anabilim Dalı, G.Ü.

Prof. Dr. Cafer Sırrı SEVİMAY .....  
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, A.Ü.

Doç. Dr. Ayten ÇELEBİ KESKİN .....  
Biyoloji Anabilim Dalı, K.Ü.

Tez Savunma Tarihi: 24/01/2014

Bu tez ile G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Doktora derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Şeref Sağıroğlu .....  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## **TEZ BİLDİRİMİ**

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Sevcan MAMUR

**DİYABETİK VE DİYABETİK OLMAYAN KRONİK BÖBREK  
YETMEZLİKLİ HEMODİYALİZ HASTALARINDA GENETİK HASARIN  
GENOTOKSİSİTE TESTLERİYLE BELİRLENMESİ**

**(Doktora Tezi)**

**Sevcan MAMUR**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Ocak 2014**

**ÖZET**

Günümüzde kronik böbrek yetmezliği (KBY) hastalığının görülme sıklığı hızlı bir şekilde artmaktadır. Kronik böbrek yetmezliği olan kişilerde kansere yakalanma sıklığının genel popülasyona göre yüksek olduğu bulunmuştur. Bu durumun mekanizması henüz tam olarak bilinmemektedir. Diyaliz tedavisinin genom hasarına yol açması tartışmalı bir konudur. Ayrıca, diyabet kronik böbrek hastalıklarında, kronik böbrek yetmezliğine yol açan en önemli nedendir. Yapılan literatür araştırmalarına göre, diyabeti olan kronik böbrek yetmezliği hastalarının genom hasarıyla ilgili, insan lenfositlerinde yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada, hemodiyalize giren diyabeti olan ve olmayan kronik böbrek yetmezlikli hastalarındaki olası genetik hasarın, kromozomal anormallikler (KA), kardeş kromatid değişimi (KKD), mikronükleus (MN) ve Comet testleriyle belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada KBY'li hastaların kromozomal anormallik (KA), kardeş kromatid değişimi (KKD) ve mikronükleus (MN) frekansları kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı oranda artmıştır. Ayrıca, kronik böbrek yetmezlikli hastaların comet kuyruk uzunluğu ve kuyruk momentinde kontrole göre önemli düzeyde artış belirlenmiştir. Ancak diyabetik ve diyabetik olmayan KBY'li hastalar arasında genotoksisite test sonuçları bakımından bir fark belirlenmemiştir. KBY'li hastaların mitotik indeks (Mİ), replikasyon indeksi (Rİ) ve nükleer

bölünme indekslerinde (NBİ) kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşüş tespit edilmiştir. Bununla birlikte, diyabetik KBY'li hastalarda, replikasyon indeksi (Rİ) ve nükleer bölünme indeksi (NBİ) diyabetik olmayan KBY'li hastalara göre önemli düzeyde düşmüştür. Ferritin değeri 500 ng/ml'den büyük olan KBY'li hastalarda mitotik indeks (Mİ) önemli düzeyde düşmüştür. Yaşı 50'den küçük olan KBY hastalarının KKD frekansı, yaşı 50'den büyük olan hastalara göre anlamlı oranda artmıştır. Yaşı 50'nin üstünde olan hastalarda nükleer bölünme indeksi (NBİ) önemli oranda azalmıştır. Vücut kitle indeksi (VKİ) 25 (kg/m<sup>2</sup>)'den büyük olan KBY'li hastalarda, comet kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momentisi; VKİ'i 25 (kg/m<sup>2</sup>)'den küçük KBY'li hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı oranda artmıştır. Ayrıca parathormon (PTH) değeri 300 pg/ml'den büyük olan KBY'li hastalarda, PTH'ı 300 pg/ml'den küçük olan KBY'li hastalara göre comet kuyruk uzunluğunda önemli düzeyde artış gözlenmiştir. PTH ve comet kuyruk uzunluğu arasında anlamlı ve pozitif korelasyon olduğu belirlenmiştir. Hemodiyaliz tedavi süresi ile KA, KKD, MN ve DNA hasarı arasında ilişki olmadığı gözlenmiştir. Elde edilen bulgular, hemodiyalize giren KBY'li hastalarda kontrol grubuna göre klastojenik ve mutajenik etkilerin arttığını ve diyabetin ise daha çok hücre çoğalması üzerinde etkili olduğunu göstermiştir.

**Bilim Kodu** : 203.1.048

**Anahtar Kelimeler** : Kronik böbrek yetmezliği (KBY), hemodiyaliz (HD), diyabet, genetik hasar, kromozomal anormallik (KA), kardeş kromatid değişimi (KKD), mikronükleus (MN), comet testi (SCGE), mitotik indeks (Mİ), replikasyon indeksi (Rİ), nükleer bölünme indeksi (NBİ).

**Sayfa Adedi** : 130

**Tez Yöneticisi** : Prof. Dr. Deniz YÜZBAŞIOĞLU

**EVALUATION OF GENETIC DAMAGE IN CHRONIC KIDNEY FAILURE  
GOING TO HEMODIALYSIS PATIENTS WITH DIABETES AND  
WITHOUT DIABETES BY GENOTOXICITY TESTS**

**(Ph. D. Thesis)**

**Sevcan MAMUR**

**GAZİ UNIVERSITY**

**GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

**January 2014**

**ABSTRACT**

**Today, the incidence of chronic kidney failure (CKF) is a disease that is increasing rapidly. The incidence of cancer in chronic kidney disease found to be higher when compared to the general population. The mechanism of this situation has not been totally known yet. The role played by dialysis in genome damage is a controversial issue. In addition, diabetes is an important cause that leads to chronic kidney failure in chronic kidney disease. According to the literature researches, no studies have been conducted to investigate genome damage in chronic kidney failure patients with diabetes in human lymphocytes. For this reason, we aimed to determine genetic damage in chronic kidney disease in hemodialysis patients with and without diabetes by using chromosomal aberrations (CAs), sister chromatid exchanges (SCEs), micronucleus (MN) and Comet tests. According to this study, in CKF patients the frequency of chromosome aberrations, sister chromatid exchanges and micronuclei statistically increased compared to controls. In addition, comet tail length and tail moment were significantly higher in chronic kidney failure patients than the control group. But, there was no difference between diabetic and non-diabetic CKF patients in terms of genotoxicity test results. In CKF patients, mitotic (MI), replication (RI) and nuclear division indices (NDI) were significantly decreased compared to controls. In addition, replication (RI) and**

nuclear division indices (NDI) were significantly decreased in diabetic CKF patients than the non-diabetic CKF patients. Mitotic index significantly decreased in CKF patients with ferritin levels higher than 500 ng/ml. In CKF patients with ageing levels less than 50 was statistically increased the frequency of sister chromatid exchanges compared to ageing levels higher than 50. Nuclear division index was significantly decreased in CKF patients with ageing levels higher than 50. The comet tail intensity and tail moment in CKF patients with body mass index (BMI) levels higher than 25 (kg/m<sup>2</sup>) significantly increased compared the body mass index (BMI) levels less than 25 (kg/m<sup>2</sup>). Moreover, the comet tail length in CKF patients with parathyroid hormone (PTH) levels higher than 300 pg/ml significantly increased compared to the parathyroid hormone (PTH) levels less than 300 pg/ml. There was a positive and significant correlation between the Comet tail length and PTH. There was no relation between the CA, SCE, MN, DNA damage and duration of hemodialysis treatment. The results of experiments showed that clastogenic and mutagenic effects were increased in patients with chronic kidney failure undergoing hemodialysis compared to the controls and diabetes mellitus also affected the cell proliferation.

**Science Code : 203.1.048**

**Key Words : Cronic kidney failure (CKF), hemodialysis (HD), diabetes, genetic damage, chromosomal aberrations (CAs), sister chromatid exchange (SCEs), micronucleus (MN), comet assay (SCGE), mitotic index (MI), replication index (RI), nuclear divison index (NDI).**

**Page Number : 130**

**Adviser : Prof. Dr. Deniz YÜZBAŞIOĞLU**

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım sırasında konunun seçiminden araştırmanın yürütülmesi ve yazımına kadar bilgi ve tecrübesiyle beni yönlendiren, ilgi ve desteğini benden esirgemeyen danışmanım sayın Prof. Dr. Deniz YÜZBAŞIOĞLU'na; Doktora eğitimim boyunca bilgilerini ve deneyimlerini esirgemeyen Tez İzleme Komitesi'nde yer alan sayın hocalarım; Prof. Dr. Fatma ÜNAL'a ve Prof. Dr. Kadriye ALTOK'a katkılarından dolayı teşekkür ederim. Ayrıca, laboratuvar çalışmalarımda yardımları ve dostukları ile her zaman yanımda olan tüm Lisansüstü öğrencisi arkadaşlarıma; tez çalışmamın istatistiksel analizlerinde benden yardımlarını esirgemeyen Dr. Serpil Müge Değer'e teşekkür ederim. Ayrıca eğitimim boyunca maddi ve manevi destekleri ile her zaman yanımda olan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmanın bir bölümü, Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri 05/2012(70) No'lu projesiyle desteklenmiştir. Maddi katkılarından dolayı Gazi Üniversitesi Rektörlüğü'ne de teşekkür ederim.



**İÇİNDEKİLER****Sayfa**

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER .....	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ .....	xii
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kronik Böbrek Yetmezliği (KBY).....	3
2.1.1. KBY tanımı ve evreleri.....	3
2.1.2. KBY insidansı ve epidemiyolojisi.....	5
2.1.3. KBY’liği ile ilgili bazı temel kavramlar.....	5
2.1.4. KBY tedavisi.....	6
2.2. KBY ve Oksidatif Stres.....	10
2.3. Diabetes Mellitus.....	12
2.3.1. Diyabetik hastalarda hemodiyaliz uygulaması.....	14
2.4. Genotoksisite Testleri.....	16
2.4.1. Kromozomal anormallik (KA) testi .....	19
2.4.2. Kardeş kromatid değişimi (KKD) testi.....	20
2.4.3. Mikronükleus (MN) testi .....	21
2.4.4. Comet (SCGE) testi .....	22

**Sayfa**

2.5. KBY'li Hastalarda Yapılan Genotoksisite Çalışmaları.....	24
3. MATERYAL VE METOT .....	31
3.1. Hasta ve Kontrol Grubu .....	31
3.1.1. Çalışmaya alınma ve dışlama kriterleri.....	33
3.2. Metod.....	33
3.2.1. Kromozomal anormallik (KA) ve kardeş kromatid değişimi (KKD) testleri .....	33
3.2.2. Mikronükleus (MN) testi.....	34
3.2.3. Comet (SCGE) testi.....	37
3.3. İstatistiksel Analiz .....	38
4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....	39
4.1. Hastaların Genel Karakteristikleri.....	39
4.2. Kromozomal Anormallik (KA) Testi Sonuçları .....	42
4.3. Mitotik İndeks (Mİ) Sonuçları.....	48
4.4. Kardeş Kromatid Değişimi (KKD) Testi Sonuçları .....	51
4.5. Replikasyon İndeksi (Rİ) Sonuçları.....	55
4.6. Mikronükleus (MN) Testi Sonuçları.....	58
4.7. Nükleer Bölünme İndeksi Sonuçları .....	61
4.8. Comet Testi Sonuçları.....	65
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	71
KAYNAKLAR.....	99
EKLER.....	127
ÖZGEÇMİŞ.....	128

**ÇİZELGELERİN LİSTESİ**

<b>Çizelge</b>	<b>Sayfa</b>
Çizelge 2.1. Kronik böbrek hastalığı evreleri.....	4
Çizelge 4.1. Hasta ve kontrol grubunun demoğrafik özellikleri.....	40
Çizelge 4.2. Hemodiyalize giren hastaların klinik ve laboratuvar özellikleri .....	42
Çizelge 4.3. Kromozomal anormallik (KA) testi sonuçları .....	43
Çizelge 4.4. Mitotik indeks (Mİ) sonuçları.....	49
Çizelge 4.5. Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda kromozomal anormallik (KA) ve mitotik indeks (Mİ) değerlerinin korelasyon analizleri.....	51
Çizelge 4.6. Kardeş kromatid değişimi (KKD) testi sonuçları.....	53
Çizelge 4.7. Replikasyon indeksi (Rİ) sonuçları.....	56
Çizelge 4.8. Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda kardeş kromatid değişimi (KKD) ve replikasyon indeksi (Rİ) değerlerinin korelasyon analizleri.....	57
Çizelge 4.9. Mikronükleus (MN) testi sonuçları.....	59
Çizelge 4.10. Nükleer bölünme indeksi (NBİ) sonuçları.....	63
Çizelge 4.11. Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda mikronükleus (MN) ve nükleer bölünme indeksi (NBİ) değerlerinin korelasyon analizleri....	64
Çizelge 4.12. Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda primer DNA hasarı sonuçları .....	66
Çizelge 4.13. Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda primer DNA hasarı değerlerinin korelasyon analizleri.....	69
Çizelge 4.14. Genotoksisite test sonuçlarının özet karşılaştırması.....	70

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
Şekil 2.1. Basit hemodiyaliz devresi.....	9
Şekil 2.3. DNA hasarının kaynakları ve sonuçları.....	18
Şekil 4.1. KBY'li hastaların ve kontrol grubunun hücre başına düşen anormallik (KA/Hücre) değerlerinin dağılımı.....	44
Şekil 4.2. KBY'li hastaların ve kontrol grubunun anormal hücre yüzdesi değerlerinin dağılımı.....	44
Şekil 4.3. KBY'li hastaların ve kontrol grubunun mitotik indeks (Mİ) değerlerinin dağılımı.....	50
Şekil 4.4. KBY'li hastaların ferritine göre mitotik indeks (Mİ) değerlerinin dağılımı.....	50
Şekil 4.5. KBY'li hastaların ve kontrol grubunun kardeş kromatid değişimi (KKD) değerlerinin dağılımı.....	52
Şekil 4.6. KBY'li hastaların yaşlarına göre kardeş kromatid değişimi (KKD) değerlerinin dağılımı.....	54
Şekil 4.7. KBY'li hastaların ve kontrol grubunun replikasyon indeksi (Rİ) değerlerinin dağılımı.....	55
Şekil 4.8. Diyabetik ve diyabetik olmayan KBY'li hastaların replikasyon indeksi (Rİ) değerlerinin dağılımı.....	57
Şekil 4.9. KBY'li hastaların ve kontrol grubunun mikronükleus (MN) değerlerinin dağılımı.....	58
Şekil 4.10. KBY'li hastaların ve kontrol grubunun nükleer bölünme indeksi (NBİ) değerlerinin dağılımı.....	62
Şekil 4.11. Diyabetik ve diyabetik olmayan KBY'li hastaların nükleer bölünme indeksi (NBİ) değerlerinin dağılımı.....	62
Şekil 4.12. KBY'li hastaların yaşlarına göre nükleer bölünme indeksi (NBİ) değerlerinin dağılımı.....	64
Şekil 4.13. KBY'li hastaların ve kontrol grubunun comet kuyruk uzunluğu (KU) ve kuyruk momenti (KM) değerlerinin dağılımı.....	67

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
Şekil 4.14. KBY'li hastaların vücut kitle indeks (VKİ)'lerine göre comet kuyruk yoğunluğu (KY) ve kuyruk momenti (KM) değerlerinin dağılımı.....	67
Şekil 4.15. KBY'li hastaların parathormon (PTH) değerine göre comet kuyruk uzunluğu (KU) değerinin dağılımı.....	68

**RESİMLERİN LİSTESİ**

<b>Resim</b>	<b>Sayfa</b>
Resim 4.1. Kronik böbrek yetmezlikli hastaların lenfositlerinde gözlenen kromozomal anormallikler.....	48
Resim 4.2. Kronik böbrek yetmezlikli hastaların lenfositlerinde gözlenen kardeş kromatid değişimleri.....	54
Resim 4.3. Kronik böbrek yetmezlikli hastaların lenfositlerinde gözlenen mikronükleuslu binükleat hücreler.....	61
Resim 4.4. Kronik böbrek yetmezlikli hastaların lenfositlerinde oluşan DNA hasarının comet testi ile görünümü.....	68
Resim 4.5. Kronik böbrek yetmezlikli hastalarındaki hasarlı hücrenin Comet Assay IV ölçüm programında görünümü.....	69

## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılan bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
%	Yüzde
°C	Santigrat derece
kg/m <sup>2</sup>	Kilogram/metrekare
ng/ml	Nanogram/ mililitre
µg/ml	Mikrogram/ mililitre
mg/kg	Miligram/kilogram
µL	Mikrolitre
mL	Mililitre
pg/ml	Pikogram/ Mililitre
rpm	Devir sayısı
V	Volt
mA	Miliamper
mm	Milimetre
<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
BMI	Body mass index
BrdU	Bromodeoksiüridin
CAs	Chromosomal aberretions
Cyt-B	Sitokalsin-B
CKF	Chronic kidney failure
DNA	Deoksiribonükleikasit
DM	Diabetes mellitus
DMSO	Dimetil sülfoksit
EDTA	Etilendiaminotetra asetik asit

**Kısaltmalar****Açıklama**

<b>FER</b>	Ferritin
<b>GFH</b>	Glomerüler filtrasyon hızı
<b>GSH-Px</b>	Glutasyon peroksidaz
<b>GSSG-Red</b>	Glutasyon redüktaz
<b>HB</b>	Hemoglobin
<b>HD</b>	Hemodiyaliz
<b>HOCl</b>	Hipoklorik asit
<b>HT</b>	Hipertansiyon
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Hidrojen peroksit
<b>KA</b>	Kromozomal anormallik
<b>KBY</b>	Kronik böbrek yetmezliği
<b>KKD</b>	Kardeş kromatid değişimi
<b>MDA</b>	Malon dialdehit
<b>MMC</b>	Mitomisin-C
<b>MN</b>	Mikronükleus
<b>Mİ</b>	Mitotik İndeks
<b>MPO</b>	Miyeloperoksidaz
<b>NaCl</b>	Sodyum klorür
<b>NaOH</b>	Sodyum hidroksit
<b>NBİ</b>	Nükleer bölünme indeksi
<b>NOS</b>	Nitrik oksit sentaz
<b>PBS</b>	Fosfat tamponu
<b>PD</b>	Periton diyalizi
<b>PMNL</b>	Polimorfo nükleer lökosit
<b>PTH</b>	Parathormon
<b>Rİ</b>	Replikasyon indeksi
<b>ROT</b>	Reaktif oksijen türleri
<b>RRT</b>	Renal replasman tedavisi
<b>RT</b>	Renal transplantasyon
<b>SCE</b>	Sister chromatid exchange



**Kısaltmalar****SCGE****SDBY****SOD****SSC****8OhdG****VKİ****Açıklama**

Single cell gel elektroforezis

Son dönem böbrek yetmezliği

Süperoksit dismutaz

Salin sitrat tamponu

8-hidroksi-2-O-deoksiguanozin

Vücut kitle indeksi

## 1. GİRİŞ

Kronik böbrek yetmezliği (KBY) hastalığı, dünyada ve ülkemizde epidemi halini almış önemli bir halk sağlığı sorunudur [Tatar ve ark., 2013]. Türk Nefroloji Derneği 2011 yılı sonuçlarına göre; Türkiye'deki genel yetişkin popülasyondaki KBY oranı %15,7 olarak bulunmuştur. Diğer bir deyişle yaklaşık altı yetişkin kişiden birisinde KBY vardır. Ülkemizde bugün KBY'nin ileri evresinde olup diyaliz tedavisi uygulanan hasta sayısı 60.000'ne ulaşmıştır. Kronik böbrek hastalıklarının pek çoğu ilerleyici bir şekilde seyrederek ve zamanla nefron sayısı giderek azalır. Böbreklerin vücudun gereksinimini hiçbir şekilde karşılayamadığı döneme kronik böbrek yetmezliği veya son dönem böbrek yetersizliği denir [Sönmez, 2008]. Giderek artan sıklığı, yol açtığı yüksek morbidite ve mortalite oranları, yaşam kalitesini ciddi şekilde etkilemesi ve tedavisi için gereken renal replasman tedavilerinin yüksek maliyeti nedeniyle toplumsal yükü büyük olan bir hastalıktır.

Kronik böbrek yetmezliği hastalığı diyabeti olan hastalarda yaygın olarak görülmektedir [Bakris, 2011; Türk Nefroloji Derneği, 2012]. Diyabetik hasta grubu değişik ülkelerde, renal replasman tedavisi altındaki hastaların ve yeni tanı alan kronik böbrek yetmezlikli hastaların %20-40'ını oluşturmaktadır. Bu oranların yıllar içinde giderek artan bir eğilim göstermesindeki en önemli neden, diyabet sıklığının artmasıdır. Yapılan çalışmalar diyabeti olan hastalardaki ölüm riskinin, diyabeti olmayanlara göre 2 kat daha arttığını göstermiştir. Ayrıca, Tip 1 diyabeti olan hastaların dörtte üçünde ölümlerin kronik böbrek yetmezliği ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir [Satman ve ark., 2009]. Bu nedenle diyabetik kronik böbrek yetmezlikli hastalarındaki olası genotoksik etkinin belirlenmesi, komplikasyonların açıklanabilmesi açısından önemli olabilir.

*In vitro* test yöntemleri ve insan lenfosit kültürleri, bir faktörün mutajenik, klastojenik ve aneugenik etkilerinin belirlenmesinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Periferik kandaki beyaz kan hücrelerinden lenfositler kullanılarak; çeşitli ajanların genotoksik etkili olup olmadıkları, kromozomal anormallik, kardeş

kromatit değişimi ve mikronükleus testleri kullanılarak değerlendirilebilmektedir. Ayrıca comet testiyle primer DNA hasarı belirlenmektedir.

Bu çalışmanın amacı, hemodiyaliz tedavisi uygulanan diyabetik ve diyabetik olmayan kronik böbrek yetmezlikli hastalarındaki olası genetik hasarı, kültüre alınmış insan periferel lenfositlerinde kromozom anormalliği (KA), kardeş kromatid değişimi (KKD), mikronükleus (MN) testleri ile ve izole edilmiş insan lenfositlerinde ise comet testi (SCGE) kullanarak *in vitro* yöntemlerle belirlemektir. Mevcut bilgilere göre, hemodiyalize giren diyabeti olan kronik böbrek yetmezlikli hastalarda insan lenfositlerinde dört farklı genotoksisite testiyle daha önce yapılmış çalışma bulunmamaktadır. Diyabet hastalığına sahip bireyler kronik böbrek yetmezliğine yakalanma açısından daha fazla risk altında olabilirler. Bu nedenle bu iki hastalığın birlikte değerlendirilmesinin ve eğer bir risk varsa önceden belirlenmesinin sağlık açısından önemli olduğu düşünölmektedir.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Kronik Böbrek Yetmezliği (KBY)**

Günümüzde kronik böbrek yetmezliği (KBY) hastalığının görülme sıklığı hızlı bir şekilde artmaktadır [Sönmez, 2008]. Türkiye’de KBY oranı yetişkinler arasında % 15,7’dir [Türk Nefroloji Derneği, 2011]. Bu hastalık, nefronların fonksiyonlarında geri dönüşsüz kayıp ile beraber, böbrek fonksiyonlarında kalıcı hasarın ortaya çıkması şeklinde tanımlanmaktadır [Ayköse, 2006]. KBY’de sıvı elektrolit dengesinin ayarlanamaması, metabolik ve endokrin fonksiyonların yerine getirilememesi vücuttaki tüm sistemleri etkileyerek bir dizi klinik sonuçlara yol açmaktadır. Yorgunluk, uyku bozukluğu, depresyon, mide barsak rahatsızlıkları, nöropati, göz, kardiyovasküler, hematolojik ve nörolojik bozukluklar görülebilmektedir [Akoğlu ve Süleymanlar, 1996].

Kronik böbrek yetmezliğine yol açan nedenler arasında; ülkeden ülkeye, ırk ve cinsiyete göre farklılık gösteren birçok potansiyel etken vardır [Süleymanlar, 2009]. Etyolojide birçok hastalık bulunsa da son zamanlarda elde edilen verilere göre diabetes mellitus (%36,55), hipertansiyon (%27,45) ve glomerulonefritler (%7,32) altta yatan temel nedenleri oluşturmaktadır [Türk Nefroloji Derneği, 2012]. Geçmişte, KBY’ye götüren en önemli neden glomerulonefritler iken, günümüzde diabetes mellitus ve hipertansiyondur. Diyabetik nefropati de tüm ırk ve etnik kökenlerde KBY’ye götüren nedenler arasında genellikle ilk sırada yer almaktadır [Nissenson ve Fine, 2009]. Ülkemizde KBY sıklığının kadınlarda, yaşlılarda, diabetes mellitus ve hipertansiyona sahip bireylerde daha sık olduğu belirlenmiştir [Türk Nefroloji Derneği, 2011].

#### **2.1.1. KBY tanımı ve evreleri**

Kronik böbrek yetmezliği (KBY), glomerüler filtrasyon hızında (GFH) ilerleyici ve genellikle geri dönüşsümsüz azalmayla karakterize fonksiyonel bir tanıdır [Süleymanlar, 2007]. KBY; glomerüler filtrasyon hızında (GFH) üç aydan fazla

süren azalma (GFH<60ml/dak/1,73 m<sup>2</sup> olması) veya kan, idrar, görüntüleme yöntemleri ile ortaya konabilen yapısal ve fonksiyonel bozukluk olarak tanımlanmaktadır [Crowe ve ark., 2008]. Bu hastalık, glomerül filtrasyon hızına göre beş evreye ayrılmaktadır. GFH'ı 15 ml/dak /1,73/m<sup>2</sup> altına düştüğünde Evre V kronik böbrek yetmezliği (KBY) veya son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) olarak kabul edilmektedir [Süleymanlar, 2009]. GFH, genellikle yıllar içinde giderek azalır ve bu azalma, altta yatan nedene göre büyük değişiklik gösterir. Aslında böbrek yetmezliğinin evreleri birbirinin içine girmiş olup kesin sınırlarla ayırmak mümkün değildir. Ancak, fonksiyonel değişiklik derecesine göre evreleme klinik ve tedavi planlanması açısından faydalıdır [Ayköse, 2006]. Kronik böbrek hastalığı evreleri Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Kronik böbrek hastalığı evreleri [Süleymanlar, 2009].

<b>Evreler</b>	<b>Tanım</b>	<b>GFH, ml/ dk /1,73 m<sup>2</sup></b>	<b>Prevalans (%)</b>
<b>Evre 1</b>	Normal veya yüksek GFH ile birlikte böbrek hasarı	≥90	3,3
<b>Evre 2</b>	Hafif GFH azalması ile birlikte böbrek hasarı	60-89	3
<b>Evre 3</b>	Orta derecede GFH azalması	30-59	4,3
<b>Evre 4</b>	Ağır derecede GFH azalması	15-29	0,2
<b>Evre 5</b>	Böbrek yetmezliği	<15 (veya diyaliz)	0,1

*GFH: Glomerüler filtrasyon hızı.*

Kronik böbrek yetmezliğinin erken evresinde sadece böbreğin fonksiyonel rezervinde azalma vardır. Böbreğin ekskresyon, biosentetik ve regülatuar fonksiyonları genellikle iyi olduğu için klinik belirti veya bulgu yoktur. Orta evrelerde, yani böbrek yetersizliğinde azotemi oluşur ve anemi gibi bazı klinik belirtiler ortaya çıksa da hastalar genellikle asemptomatiktir. Ancak, enfeksiyon veya nefrotoksik ilaç kullanımı gibi araya giren akut stresler hastayı hızla üremik tabloya sokar. İleri evreye ulaşmış böbrek yetmezliğinde (Evre V) ise; böbreğin ekskresyon, biyosentez ve regülasyon fonksiyonları büyük ölçüde bozular. Azotemi giderek artar ve hemen hemen her organ sistemi ile ilgili belirti ve bulgular ortaya çıkar. Bu klinik sendrom, üremi olarak tanımlanır [Akoğlu ve Süleymanlar, 1996]. Üremi, kronik

böbrek yetersizliğinin neden olduğu tüm klinik ve biyokimyasal anormallikleri içeren tıbbi bir tablodur [Sönmez, 2008].

### 2.1.2. İnsidansı ve epidemiyolojisi

Ülkemizde yılda ortalama 17594 hastaya son dönem böbrek hastalığı tanısı konmaktadır. Türk Nefroloji Derneği 2012 yılı kayıtlarına göre bu hastalardan % 81,60'üne hemodiyaliz, % 12,77'sına periton diyaliz tedavisi ve % 5,63'una transplantasyon tedavisi uygulanmıştır. Hemodiyaliz tedavisi uygulanan hastalardaki en sık rastlanan ölüm nedeni, kardiyovasküler hastalıklardır (%54,02). Bu durum kardiyovasküler ve renal patolojiler arasındaki ilişkinin bir sonucu olarak kabul edilebilir. Bunu malignite (%12,16), serebrovasküler hastalıklar (%10,33) ve enfeksiyonlar (%8,64) izlemektedir [Türk Nefroloji Derneği, 2012].

### 2.1.3. KBY'liği ile ilgili bazı temel kavramlar

*Hemoglobin A1c (HbA1c) (Glisemik kontrol düzeyi):* Diyabetik hastalarda glisemik kontrolün takibinde hemoglobin A1c (HbA1c) testi kullanılmaktadır. HbA1c kandaki ana glikozile hemoglobin (Hb)'dir ve HbA1'in yaklaşık %80'ni oluşturur [Miedema, 2003]. Glikolize hemoglobin, HbA1c/total Hb oranı % olarak gösterilir. HbA1c'nin normal değeri 3,9–6,0 arasındadır. Glisemik kontrolün sağlanması diyabetik diyaliz hastalarında tedavinin öncelikli hedeflerindedir. %6-7 düzeyindeki HbA1c iyi glisemik kontrolü gösterir. Üremik metabolitler, özellikle HbA1c'nin %7,5'in üstünde olduğu durumlarda sonuçların etkilenmesine yol açar. Açlık serum glukozu 130 mg/dl'nin, tokluk serum glukozu 180 mg/dl'nin altında tutulmalıdır. Hedeflenen bu değerler hemodiyaliz hastalarında ciddi komplikasyonlardan biri olan hipoglisemi riskini azaltmaktadır [Yılmaz ve Altun, 2009].

*Diyalizin etkinliğini ölçen indeks (Kt/V):* Hemodiyaliz hastalarında hemodiyaliz yeterliliğini gösteren en önemli belirteç Kt/V oranıdır [Hornberger, 1993]. Üre uzaklaştırma hızı Kt/V ile gösterilir [(K; mL/dk) belli kan akım hızı, (t; dakika) hemodiyaliz tedavi süresi ve (V) üre dağılım volümüdür]. Hemodiyaliz hastaları için

önerilen standart değeri Kt/V 1.2'nin üstüdür [Söylemezoğlu ve Fidan, 2009]. Kt/V'nin üre klirensinden bağımsız olarak doğrudan hasta sonuçlarını değiştirdiği ileri sürülmüştür. Yüksek Kt/V olan bazı hastaların malnütrisyonu (kötü beslenme) bağlı mortaliteleri artmıştır. Yapılan bir çalışmada Kt/V 0.8'in altında olduğunda morbidite oranı yüksek iken, Kt/V oranı 1.0-1.2 arasında olduğunda morbidite oranının düştüğünü belirlemişlerdir [Hakim ve ark., 1994]. 2012 yılı Türk Nefroloji Derneği'nden elde edilen verilere göre; KBY hastalarının % 87'sinde Kt/V üre değeri 1.2'nin üstündedir. Bu durum diyalizin yeterli dozda yapıldığını göstermektedir.

*Üre azalma oranı (Urr):* Uygulanan diyalizin en basit ölçüsüdür. Diyaliz yeterliliği için Urr en az %70 ve üstünde olmalıdır. Bu da yaklaşık 1.3 Kt/V'ye eşittir. Urr; diyaliz süresini, ultrafiltrasyonun etkisini, V (üre dağılım volümü)'nü hesaba katmaz. Urr değeri, Kt/V değeri ile orantılıdır. Aşağıdaki fomüle göre hesaplanır [Yavuz ve Sezer, 2009].

$$Urr = \frac{[Prediyaliz BUN - Postdiyaliz BUN] \times 100}{Prediyaliz BUN}$$

*BUN (üre):* Prediyaliz BUN seviyesi, üre yapımı ve uzaklaştırılması arasındaki dengeyi gösterir. İstenilen BUN seviyesi 50-80 mg/dl'dir. Prediyaliz BUN seviyesini etkileyen başlıca faktörler diyetle alınan protein miktarı, rezidüel renal fonksiyon ve diyaliz tedavisinin etkinliğidir. Hastaya fazla hemodiyaliz uygulanmadığı ve rezidüel glomerüler filtrasyon hızı 2-3 ml/dak.'nın üzerinde olmadığı sürece, prediyaliz BUN değerinin 50-80 mg/dl'nin altında olması yetersiz protein alımının bir göstergesidir. Bununla birlikte, yetersiz diyaliz uygulanan hastalarda, yetersiz protein alımı olsa bile prediyaliz BUN seviyesinin istenilen sınırlarda olabileceği unutulmamalıdır [Altıparmak, 2009].

#### **2.1.4. KBY tedavisi**

Kronik böbrek yetmezliği olan hastalara düzenli olarak hemodiyaliz, periton diyalizi veya böbrek transplantasyonu gibi renal replasman tedavilerinden (RRT) biri

uygulanır [Türk Nefroloji Derneği, 2011]. Hastalar her üç tedavi yönteminden de zaman içerisinde yararlanmak durumunda kalabilmektedirler.

Hemodiyaliz, yarı geçirgen bir membran aracılığı ile hastanın kanı ve uygun diyaliz solüsyonu arasında, sıvı-solid değişimini esas alan bir tedavi şeklidir. Diffüzyon ve ultrafiltrasyon olmak üzere iki temel prensibi vardır. Diffüzyon, konsantrasyon farkına bağlı olarak solütlerin yer değiştirmesi; ultrafiltrasyon ise, hidrostatik basınç ile birlikte suyun ve suyu takiben solütlerin membranın diğer tarafına hareketidir [Çamsarı ve Çavdar, 2009].

Periton diyaliz, böbrek yetmezlikli hastalarda böbrek fonksiyonlarının kesintisiz olarak, doğal bir membranla herhangi bir kuvvete veya alete gerek duyulmadan yerine koyma işlemidir. Periton boşluğundaki solüt ve su absorpsiyonu periton zarındaki kapiller dolaşım ve lenfatikler yardımıyla olur. Periton zarı toksik maddeleri filtre eden yarı geçirgen zar vazifesi görür [Daugirdas ve ark., 2003].

Renal replasman tedavileri arasında transplantasyon; hastalara en iyi yaşam kalitesini sunması nedeniyle en seçkin tedavi yöntemidir. Transplantasyonda, diyaliz tedavilerinde olduğu gibi böbrek fonksiyonlarından bazıları değil tamamı yerine getirilir [Başçı, 2009].

### Hemodiyaliz (HD)

Hemodiyaliz ülkemizde en sık uygulanan RRT tipidir [Türk Nefroloji Derneği, 2012; Tatar ve ark., 2013]. İlk olarak 1946 yılında Willem Koff tarafından akut böbrek yetmezliğinin tedavisinde, 1960'lardan itibaren de giderek kronik böbrek yetmezliği bulunan hastaların tedavisinde uygulanmaya başlanmıştır [Ayköse, 2006]. Hemodiyaliz, uygun bir damar yolu (A-V fistül, greft veya kateter) aracılığıyla hastadan alınan kanın (300-450ml/dk) antikoagülasyon ile vücut dışında cihaz yardımıyla yarı geçirgen bir membrandan (diyalizör) geçirilerek sıvı ve solüt içeriğinin yeniden düzenlenerek hastaya geri verilmesi esasına dayanan bir böbrek yerine koyma tedavisidir [Ayköse, 2006; Çamsarı ve Çavdar, 2009]. HD işleminde,



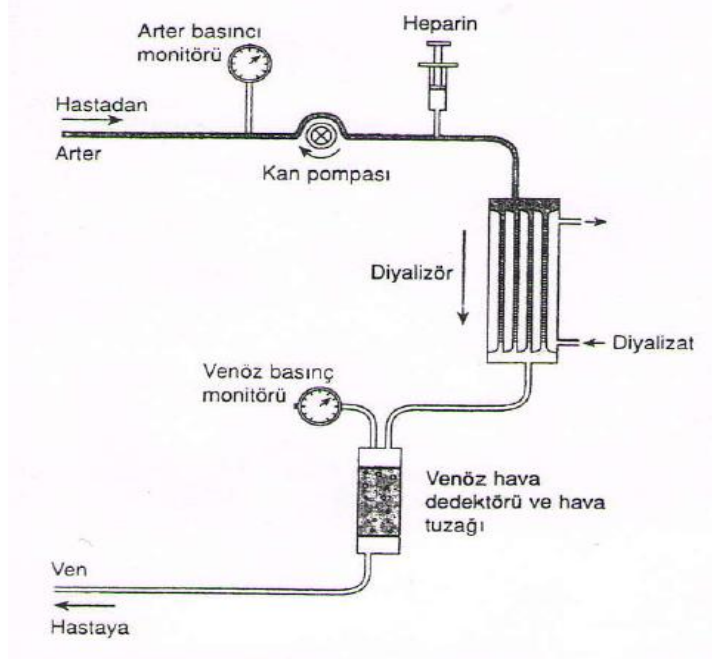
iki iğne yardımı ile kan makinarya gider, bir filtreden geçer, temizlenir ve tekrar damara geri döner (Şekil 2.1) [Ayköse, 2006]. Bu yöntemde hastanın kanı vücut dışında yapay böbrek denilen diyaliz aygıtının içinde dolaştırılır. Aygıtın içi yarı geçirgen bir maddeden yapılmış zarla ikiye ayrılmıştır. Zarın bir tarafında hastanın kanı diğer tarafında da diyaliz sıvısı bulunur. Kan ve diyaliz sıvısı arasında difüzyon ve osmoz olaylarına bağlı olarak madde ve su alışverişi olur. Kanda üre, ürik asit, kreatinin, potasyum, fosfor ve diyaliz olabilecek toksik maddeler diyaliz sıvısına geçerek hasta kanından uzaklaştırılır [Köksal ve Gökmen, 2000].

Hemodiyaliz işleminin üç ana birleşeni vardır:

- Diyalizör (membran=filtre)
- Pompa yardımıyla kan diyalizat dolaşımını sağlayan sistem
- Solüt klirensi için belirli bir kimyasal kompozisyonda sıvı (diyalizat).

Diyalizat, diyaliz makinası içinde işlenmiş su ile karışan konsantre diyalizattan oluşur [Çamsarı ve Çavdar, 2009]. Diyalizin etkinliğini arttırmak amacı ile diyalizat ve kan akımları ters yönlüdür. Diyalizörler Hallow fiber (içi boş kapiller) veya paralel tabakalar yapısında olabilir. Diyaliz membranların kimyasal içeriği sellüloz veya sentetik olabilir. Diyaliz membranında (diyalizör) kapiller içinde hastanın kanı, kapiller arasında ise makine tarafından hazırlanmış diyalizat bulunur. Kan akımı 300 ml/dk'da tutmak için yeterli olan geçici ya da kalıcı damar girişiminden alınan kan yarı sentetik membrandaki çok sayıda kapillere pompalanır. Kan akımına ters yönde sodyum klorür, asetat veya bikarbonat ve değişken konsantrasyondaki potasyum içeren bir diyalizat diyalizöre verilir [Arık, 2001; Akpolat ve ark., 2002]. Diyalizat, diyalizörden sonra bir kanal içine akar ve uzaklaştırılır [Çamsarı ve Çavdar, 2009]. Membrandaki diffüzyon, üre gibi küçük molekül ağırlıklı maddelerin konsantrasyon gradiyentine bağlı olarak kan tarafını bırakıp diyalizat tarafına hareket etmesini sağlar. Benzer şekilde genelde konsantrasyonu 35 mEq/L olan bikarbonat kan tarafına diffüze olur. Su ve sodyum klorür fazlalığının uzaklaştırılması, membran boyunca olan hidrostatik basınca bağlı olarak ultrafiltrasyonla olur. Hemodiyaliz

hastasının ortalama haftada üç kez, dört saat diyalize girmesi gerekir [Arık, 2001; Akpolat ve ark., 2002].



Şekil 2.1. Basit hemodiyaliz devresi [Levy ve ark., 2002].

### Hemodiyalizin Avantajları

- Tedavi süresi kısadır.
- Atık maddeler vücuttan hızlı bir şekilde uzaklaştırılır.
- Diyaliz ortamı hastanın diğer hastalar ile ilişki kurmasını sağlar.
- Her gün değil, haftada iki veya üç kez uygulanır.
- Hastaneye yatma gereksinimi daha az olur [Ayköse, 2006; Serdengeçti ve Seyati, 2009].

### Hemodiyalizin Dezavantajları

- Tedavi seansları arasında sıvı-elektrolit ve metabolik değişime bağlı olarak diyaliz sonrası hastanın kendini iyi hissetmesi, ancak sonraki seansa kadar yavaş yavaş tekrar kötüleşmesi sonucu oluşan rahatsızlık hissedilmektedir.

- Tedavi sırasında iğneler kullanılmaktadır.
- Heparin ihtiyacı gerekmektedir.
- Sıvı çekilmesi ile hipotansiyon gelişebilir.
- Çeşitli sıvı ve gıdaların alınmasında kısıtlanmalar vardır.
- Fistül için minör cerrahi bir girişim gerekmektedir [Ayköse, 2006].
- Hemodiyalizde kas krampları, bulantı, kusma, baş ağrısı, göğüs ve sırt ağrısı, kaşıntı, titreme, ateş ve anafilaktik reaksiyonlar gibi komplikasyonlar görülebilir [Akpolat ve ark., 2002; Daugirdas ve ark., 2003; Serdengeçti ve Seyati, 2009].

## 2.2. KBY ve Oksidatif Stres

Kronik böbrek yetmezliğinde (KBY) ilerleyici fonksiyon kaybını açıklamak üzere öne sürülen mekanizma oksidatif strestir. Organizmada, serbest oksijen radikallerinin aşırı miktarda üretildiği ya da antioksidan mekanizmaların yetersiz kaldığı durumlarda; oksidan-antioksidan sistemler arasındaki dengenin bozulması, oksidatif stres olarak adlandırılır [Birben ve ark., 2013]. Oksidatif stresteki artışlar ve antioksidan mekanizmada değişiklikler hücre sinyalinde değişiklik meydana getirebilir [Himmelfarb, 2009]. Biyolojik sistemlerde serbest radikallerin ürettiği reaktif oksijen türleri (ROT); süperoksit anyonu ( $2O_2^-$ ), hidroksil radikali ( $HO^\cdot$ ), peroksil radikali ( $ROO^\cdot$ ), nitrik oksit ( $NO^\cdot$ ) ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )'tir. ROT'lar en önemli oksidatif stres kaynaklarıdır [Babior, 2000]. Birçok reaktif oksijen türevleri belli amino asit atıklarını ve lipid parçalarını hedeflemektedir [Himmelfarb, 2009]. Reaktif oksijen türleri hücre membranındaki lipidleri etkileyerek, membranın akışkanlığında ve geçirgenliğinde değişiklikler yaparlar. Aynı zamanda, hücrenin normal fonksiyonları için gerekli olan nükleik asit ve protein gibi yapılarında kimyasal değişiklikler oluşturarak yapısal ve fonksiyonel hücre hasarına yol açarlar [Shimizu ve ark., 2004]. DNA'daki hafif hasarlar tamir edilebilmektedir fakat aşırı oksidatif stres hücre ölümüyle sonuçlanmaktadır [Nicco ve ark., 2005; Ott ve ark., 2007].

Kronik böbrek yetmezliği; oksidatif stresi artırmakla birlikte, antioksidant savunmayı da azaltarak, prooksidan faktörlerin sayısını artırmaktadır [Vecchio ve ark., 2011].

Bu hastalarda, serbest radikallerin aşırı üretimi ya da yetersiz antioksidan savunma sistemi nedeniyle, oksidatif dengenin bozulduğuna dair görüş birliği vardır [Mayer ve ark., 2003; Dursun ve ark., 2005; Kao ve ark., 2010]. Antioksidant sistemdeki bozukluklar kronik böbrek yetmezliğinin erken evrelerde başlamasına yol açmaktadır [Bagatini ve ark., 2008]. KBY’de serbest oksijen radikalleri üreten başlıca oksidatif yollar yıllardır araştırılmaktadır. Araştırmacılar böbrekte; glomerüler hücreler (endotel, mezangial, epitel), nötrofiller, monosit/makrofajlar ve trombositler tarafından serbest oksijen radikalleri oluşturulduğunu gözlemişlerdir [Heinzelmann ve ark., 1999]. Oksidatif stres, kanseri de içeren birçok kronik hastalığın gelişmesinde önemli bir faktördür [Behrend ve ark., 2003; Kryston ve ark., 2011].

Oksidatif stresi, kronik böbrek yetmezliğinin kendisi artırdığı gibi, hemodiyaliz tedavisinin de bu duruma katkıda bulunduğu tespit edilmiştir [Stopper ve ark., 2001; Giray ve ark., 2003; Antolini ve ark., 2005]. Bu iki faktörün bir araya gelmesiyle, reaktif oksijen türlerinin sayısında artış ve antioksidant savunma sisteminde azalma sonucu oksidatif stres meydana gelir [González Rico ve ark., 2006; Pallechi ve ark., 2007].

Diyaliz tedavisi uygulanan kronik böbrek yetmezlikli hastalardaki oksidatif stresin çeşitli sebepleri vardır. Bunlar;

- a) Diyaliz prosedürünün kendisi oksidatif strese yol açar. Diyaliz membranı süpürücü molekülleri yok ederek, inflamatuvar hücreleri tarafından atılan ROT’un oluşmasına sebep olur [Jackson ve ark., 1995; Spittle ve ark., 2001].
- b) Bu hastalarda glutatyon bazlı süpürme sisteminde azalma görülmüştür. Ayrıca, süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzimlerin azalmasının yanında C ve E vitamini eksikliği de görülmektedir [Locatelli ve ark., 2003; Kao ve ark., 2010].
- c) Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda gerekli olan besinlerin kısıtlanması, taze sebze ve meyvelerin düşük alımı vitamin eksikliği ile sonuçlanır [Schupp ve ark., 2010].

d) Bu hastalarda, kötü beslenme ve kronik durumun birlikte görülmesi mikroiinflamasyona yol açar. Mikroiinflamasyon, nötrofiller tarafından aktive edilen ROT oluşumunu artırır [Cachofeiro ve ark., 2008].

KBY’de miyeloperoksidaz (MPO) ile katalizlenen oksidatif olayların ve üreminin de, oksidatif stresi artırdığı belirtilmiştir [Witko-Sarsat ve ark., 1996; Himmelfarb ve Monagle, 2001; Sarpkaya, 2003]. Bu oksidatif reaksiyonlar, doğrudan inflamasyonla ilişkili görünmektedir [Mimic-Oka ve ark., 2001; Yazıcı ve Köse, 2004]. Kronik inflamasyon, KBY hastalarında ve özellikle diyaliz tedavisi uygulananlarda yaygın bir durumdur [Amore ve Coppo, 2002]. HD’ye giren KBY hastalarında, dolaşımdaki nötrofillerde oksidatif metabolizmanın arttığı belirtilmiştir [Paul, 1991]. HD hastalarında, plazma miyeloperoksidaz aktivitesinin yükseldiği tespit edilmiştir [Himmelfarb ve ark., 2001; Sarpkaya, 2003].

### **2.3. Diabetes Mellitus**

Kronik böbrek yetmezliği birçok nedenle gelişebilir. Bununla birlikte, dünyanın her yerinde diyabete bağlı olarak gelişen KBY’nin sayısı giderek artmaktadır [Süleymanlar, 2009]. Diyabet, kronik böbrek yetmezliğinin (KBY) tek başına en önemli nedenidir [Deray ve ark., 2004].

Diyabet, ya insülin salgılanmasındaki yetersizlik ya da insülinin etkisindeki bir bozukluk sonucunda ortaya çıkan yüksek kan şekerinin yol açtığı kronik bir metabolizma hastalığıdır [Satman ve ark., 2009]. Türk Nefroloji Derneği’nden elde edilen verilere göre Türkiye’de son dönem böbrek yetmezliğine götüren ilk neden diabetes mellitus’tur [Türk Nefroloji Derneği, 2012].

Diyabetikler insüline-bağlı diabetes mellitus (Tip 1) ve insülininden bağımsız diabetes mellitus (Tip 2) olmak üzere iki gruba ayrılır [Champe ve Harvey, 1997].

### İnsüline Bağımlı Diabetes Mellitus (Tip 1)

Tip 1 diyabet, pankreasın beta hücrelerinin ürettiği insülinin ortadan kalkması ile ortaya çıkan ve sonuçta tam insülin yetersizliğinin oluşması ile karakterize bir hastalıktır [Rother, 2007]. Bu hastalıkta, pankreasın  $\beta$  hücreleri ağır bir otoimmün atak nedeniyle hasarlanmıştır ve insülin tamamen eksiktir [Champe ve Harvey, 1997].  $\beta$ -hücrelerinin yaklaşık % 80'i tahrip olduğunda klinik bulgularıyla diyabet ortaya çıkar. Fonksiyonel  $\beta$ -hücrelerinin olmasına rağmen, normal glukoz toleransını sürdürmek için miktar yeterli değildir [Çınkır, 2011]. Bu hasarın oluşması için çevresel bir uyarı ve  $\beta$  hücrelerinin yabancı olarak tanınmasını sağlayan genetik bir belirlenmeye gerek vardır. Tip 1 diyabette insülin tedavisi her zaman zorunludur ve deri altına uygulanmalıdır [Champe ve Harvey, 1997].

### İnsüline Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus (Tip 2)

Diyabet hastalarının % 90'dan daha fazla bir kısmını Tip 2 diyabetik hastalar oluşturur [Champe ve Harvey, 1997; Güvener, 2006]. Bu hastalık sıklıkla tarama testleri sırasında saptanır. Tip 2 diyabet hastalarının  $\beta$  hücreleri fonksiyon görmektedir ve yaşam desteği için insülin gerektirmezler. Buna rağmen bazı hastalarda hipergliseminin kontrolü için insülin gerekebilir [Champe ve Harvey, 1997]. Tanı sıklıkla hipergliseminin bulunmasıyla konur. Hastalığın bulunması neredeyse tamamen genetik faktörler tarafından belirlenir. Bu hastalığın oluşumunda virüslerin ve otoimmün antikorların rolü yoktur.  $\beta$  hücrelerinde fonksiyon bozukluğu olduğundan, hipergliseminin önlenmesi için yeterli miktarda insülin sekresyonu yapılmamaktadır. Ayrıca bu tip diyabette dokular insüline normal yanıt vermediğinde insülin direncinden söz edilir [Champe ve Harvey, 1997]. Hastalarda hipergliseminin belirlenmesiyle; hem yetersiz insülin sekresyonu, hem de insülin direnci gözlenir. Bu durum iki faktörden hangisinin kısır döngüde hastalıktan esas olarak sorumlu olduğunu saptamayı zorlaştırır [Güvener, 2006].

### 2.3.1. Diyabetik hastalarda hemodiyaliz uygulaması

Diyaliz hastalarında, diabetes mellitus gibi eşlik eden hastalıkların olması önemli sorunlardan biridir [Mailloux ve ark., 1991]. Diyalize giren diyabetik hastalarda, KBY insidansında azalma henüz gösterilmiş değildir. Diyabetik tanısı konmuş olan hastaların %90-95'ini Tip 2 diyabeti olan, %5-10'unu Tip 1 diyabeti olan hastalar oluşturmaktadır. Her iki diyabet tipinde KBY sıklığı benzer oranlarda görülmektedir. Bununla birlikte, diyalize giren diyabetik hastaların büyük çoğunluğunu Tip 2 diyabet hastaları oluşturmaktadır [Yılmaz ve Altun, 2009].

Diyabetik hastaların diyabetik olmayanlara göre, glomerüler filtrasyon hızlarında (GFH) azalma daha yüksektir ve üremik semptomları fazladır. Bu nedenle bu hastaların daha erken diyalize başlaması önerilir [Yılmaz ve Altun, 2009]. Diyabetin kontrol edilememesi sonucu oluşan hiperglisemi, hastalarda akut ve kronik komplikasyonlara yol açarak, onların yaşam kalitesini bozabilir [Satman ve ark., 2009]. Hastalarda görülen başlıca komplikasyonlar; retinopati, nöropati, nefropati, koroner kalp hastalığı ve diyabetik ayakdır [Yılmaz ve Altun, 2009; Satman ve ark., 2009]. Diyabetik nefropati dünyada ve ülkemizde son dönem böbrek yetmezliğinin majör nedenlerindedir [Çinkır, 2011]. Diyabetik nefropati süreci diyaliz aşamasına ulaştığında, diyabetin tedavisinde yeni sorunlar ortaya çıkmaktadır. Diyabetik hastalarda HD'ye başlanmasından sonra kan glukozu kontrolü sıklıkla kötüleşir [Nissenson ve Fine, 2009]. Diyabetik nefropatili hastalarda insülin ihtiyacı azalır, retinopati ilerler, hipertansiyon gelişir. Tip 1 diyabetli hastalarda iyi glikemik ve hipertansif kontrolün sağlanmasının diyabetik nefropati insidansını düşürdüğü belirlenmiştir [Steffes ve ark., 1989; Arık, 2001]. Hastaların yarısında komplikasyonlar şiddetlidir. Diyabetik hastalarda glomerüler filtrasyon hızındaki azalmaya bağlı olarak gelişen üremi, diyabetin böbrek dışı komplikasyonları ile abartılı hale gelir [Yılmaz ve Altun, 2009]. Bununla birlikte, Al-Khoury ve arkadaşları (2006), önemli komplikasyonlardan biri olan aneminin diyabeti olan olgularda olmayanlara göre daha erken evrelerde ortaya çıktığını ve daha ciddi düzeyde olduğunu saptamışlardır. Diyabeti olan KBY hastalarındaki yüksek ölüm riski, artmış komplikasyonlar sebebi ile olmaktadır [Yılmaz ve Altun, 2009].

Diyabetik hastaların mortalite oranları, diyabeti olmayan benzer yaştaki hastalardan anlamlı derecede daha yüksektir [Mailloux ve ark., 1991; Merkus ve ark., 2000]. Ayrıca diyabetin varlığı koroner hastalıklar için majör risk faktörüdür [Nas, 2011].

Diyabetli hastalarda fakir glisemik kontrol; diyabetik nefropatinin artması ve kronik böbrek yetmezliğinin hızlı ilerlemesi ile ilişkilendirilmektedir [Arık, 2001]. Reheem ve Fattah (2013); diyabetik retinopati hastalarda, D vitamininin aktif hormonal yapısı olan kalsitriol [1,25(OH)2D3]'ün serum konsantrasyonlarının önemli düzeyde düştüğünü belirtmişlerdir. Ayrıca, düşük D vitamini ve yüksek parathormon seviyelerinin diyabetik retinopatinin patogeneğinde bir markır olabileceğini tespit etmişlerdir [Reheem ve Fattah, 2013]. Aşırı parathormon seviyesi inflamatuvar sitokinlere neden olabilir ve bu da, diyabetik retinopatinin patogenezinin artmasında rol oynar [Mitnick ve ark., 2001; Taverna ve ark., 2005]. Klinik çalışmalar, sıkı glisemik kontrolün genel populasyonda retinopati, nefropati ve nöropati gelişme riskini azalttığını göstermiştir [Yılmaz ve Altun, 2009]. Ayrıca glisemik kontrolün, hemoglobin A1c (HbA1c) ile ölçülmesinin kardiovasküler komplikasyonlar için bir belirteç olduğu tespit edilmiştir [Chaturvedi ve Fuller, 1995; Gaede ve ark., 2003]. Periton diyaliz hastalarında fakir glisemik kontrol yüksek mortalite oranları ile ilişkilendirilmektedir [Duong ve ark., 2011].

Diyabetik komplikasyonların ilerlemesi artmış oksidatif stres yüzündendir [Rösen ve ark., 2001; Miyazaki ve ark., 2007]. Diyabetik nefropatide, hiperglisemi mikroinflamasyona sebep olur ve oksidatif stresin artmasına yol açar [Kalousova ve ark., 2003]. Dolayısıyla, hemodiyalize giren diyabetik hastalarda oksidatif stresin daha yüksek olduğu belirlenmiştir [Dursun ve ark., 2005]. Kontrolsüz diyabet sonucu oluşan hiperglisemi, reaktif oksijen türlerinin üretimine yol açarak, ROT seviyesini artırmakta ve hücrelerde antioksidan savunmayı etkilemektedir [Miyazaki ve ark., 2007; Farghaly ve ark., 2012]. Dursun ve arkadaşları (2005); sadece diyabetik hastalarda (n=20), hemodiyalize giren diyabetik böbrek yetmezlikli hastalarda (n=20), hemodiyalize giren diyabetik olmayan böbrek yetmezlikli hastalarda (n=20), lipid peroksidasyonu yüzünden oksidatif stres seviyelerinde kontrol grubuna (n=20) göre artış olduğunu ve süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi



antioksidant enzimlerde ise azalma olduğunu belirtmişlerdir [Dursun ve ark., 2005]. Bu hastalarda, serbest radikallerin aşırı üretimi; hücresel proteinler, membran lipidleri ve nükleik asitler üzerinde hasara yol açarak, sonunda hücre ölümüne sebep olmaktadır [Kato ve ark., 1999; Rösen ve ark., 2001].

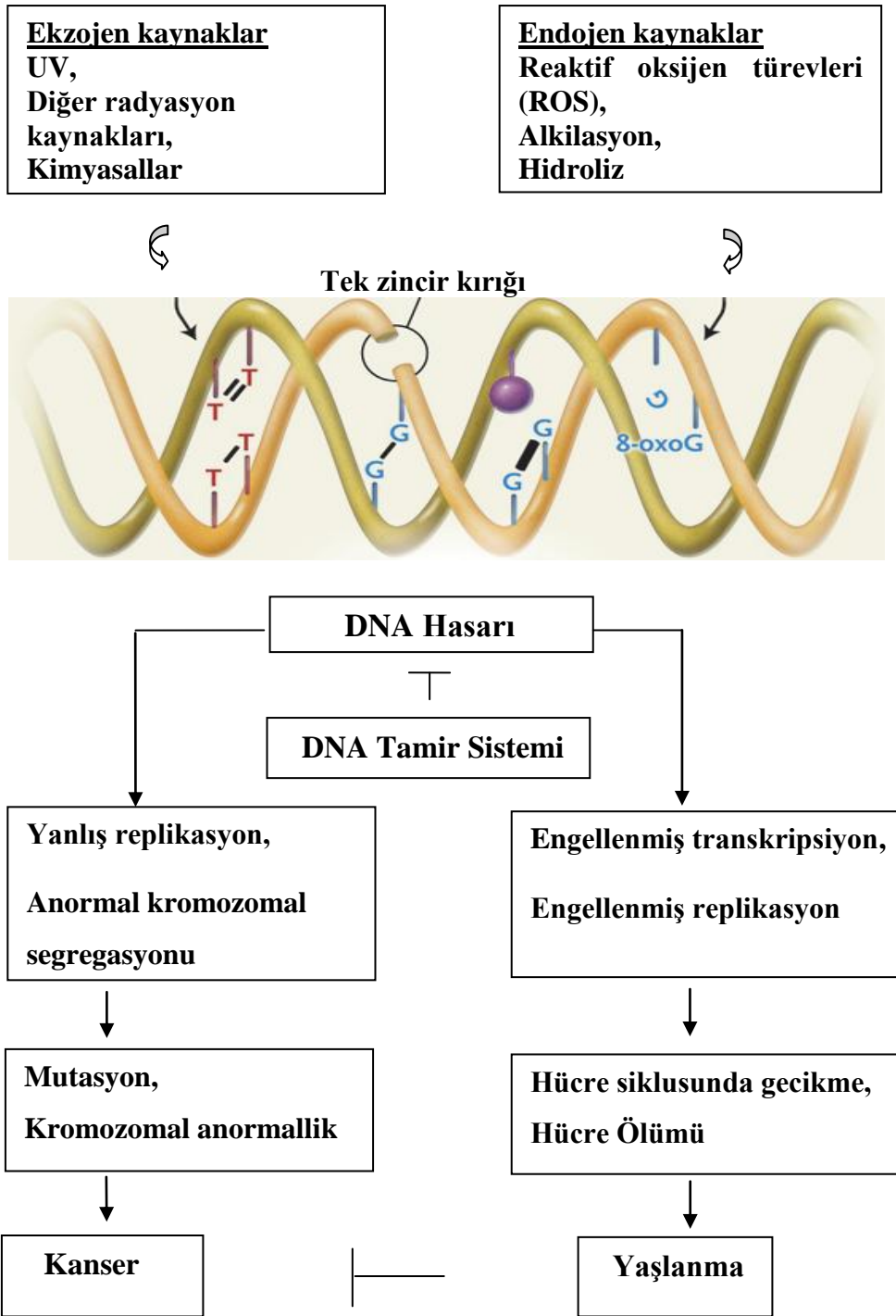
Yapılan araştırmalar ışığında, diyabet hastalığına sahip bireyler kronik böbrek yetmezliğine yakalanma açısından daha fazla risk altında olabilirler. Diyabetli hastalarda birçok kanserin görülme sıklığı artmıştır. Bu durum; her iki hastalığın yanlış beslenme, fiziksel hareketsizlik ve obezite gibi risk faktörlerinin ortak olmasından kaynaklanıyor olabilir [Cannata ve ark., 2010]. Diyabeti olan hastalarda, kansere bağlı ölüm riski % 40 civarındadır. Diyabette kanser ve mortalite risklerindeki artışta hipergliseminin ve obezitenin rolü olduğu sanılmaktadır. Diyabet tedavisinde kullanılan yüksek dozda insülinin kanserin artışına yol açtığı düşünülmektedir. Bu konuda daha fazla ve geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır [Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2011].

#### **2.4. Genotoksisite Testleri**

Son yıllarda genetik hasarların, genetik hastalıkların ve kanser vakalarının sayısı önemli bir artış göstermektedir. Her ne kadar bu tip hasarlar ve hastalıkların nedenleri spontan mutasyonlara bağlansa da, çevremizde sürekli maruz kaldığımız dış kaynaklı etkenler de göz ardı edilemeyecek kadar büyüktür [Atlı-Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011]. Bu nedenle moleküler epidemiyoloji ve toksisite alanındaki gelişmelerle, hastalık ve toksik bir durumun erken teşhisi için değerli yöntemlerin ortaya çıkması sağlanmıştır. Çevresel ve mesleki maruziyetlerde bu yöntemler büyük önem taşımaktadır [Aykanat ve ark., 2010]. Bunun için 1970 yıllardan itibaren genotoksisite testleri yaygın olarak kullanılmaktadır [Bedir ve ark., 2004]. Bu testler; çeşitli mekanizmalarla genetik hasara yol açabilecek pek çok etkenin, mutasyonlara, kromozom anormalliklerine veya DNA hasarlarına neden olup olmadıklarını belirlememizi sağlar [Zeiger, 2004; Vural, 2005].

Genetik hasarlar; doğum defektleri, kanser, yaşlanma, infertilite ve bazı genetik ve multifaktöriyel hastalıklara yol açabildiği için, mutajen ve karsinojenlerin tanımlanması ve risklerinin en düşük seviyeye indirilebilmesi halk sağlığının korunması için önemlidir [Atlı-Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011].

DNA bütünlüğünün üç farklı tehdit altında bulunduğu bilinmektedir. Birincisi, DNA'nın kimyasal yapısında abazik bölgelere ve deaminasyona neden olan spontan reaksiyonlardır (çoğunlukla hidroliz) [Lindahl, 1993; Sander ve ark., 2005]. İkincisi kendi metabolizmamız sonucu oluşan reaktif oksijen ve nitrojen türleri, lipit peroksidasyon ürünleri, endojen alkilleyici ajanlar, östrojen ve kolesterol metabolitleri ve reaktif karbonil türleridir [Bont ve Larebeke, 2004]. Üçüncüsü ise, ekzojen fiziksel ve kimyasal ajanlardır. Tüm bu etkenler nedeniyle DNA da hasarlar oluşmaktadır [Hoeijmakers, 2009]. Nükleer DNA'daki tek zincir kırıkları ve spontan baz kayıplarının tahmini sayısı günde hücre başına  $10^4$ 'den fazladır [Lindahl, 1993; Sander ve ark., 2005]. Diğer tip spontan hasarları da dahil ettiğimizde bu sayı günde hücre başına  $10^5$ 'e ulaşmaktadır [Lindahl, 1993]. DNA hasarı hücre ölümü, yaşlanma ya da kansere neden olabilecek mutasyonlara yol açabilir. DNA lezyonları mutajenik, sitostatik veya sitotoksik etki oluşturabilir [Hoeijmakers, 2009].



Şekil 2.3. DNA hasarının kaynakları ve sonuçları [Hoeijmakers, 2009].

Genotoksisite testlerinde hem farklı tipte organizmalar ve hem de farklı tipte test metodları kullanılmaktadır. Bu testlerden birisi Ames testi olarak adlandırılır ve *Salmonella typhimurium*'un iki farklı suşunda çalışılır. TA98 suşu, çerçeve kayması

mutasyonları için, TA100 suşu ise baz çifti değişimleri için kullanılır. Bu test ile, kullanılan kimyasalın DNA molekülünde nokta mutasyonlarına neden olup olmadığı belirlenir [Cavallo ve ark., 2005]. Sıkça kullanılan testlerden bir diğeri, *Drosophila melanogaster*'de eşeye bağlı resesif letalite testidir. Bu teknikte, hem nokta mutasyonları hem de küçük delesyonlar belirlenmektedir. Mayalarda ise, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Saccharomyces pompe* genotoksisite çalışmalarında en fazla kullanılan türlerdir. pH ve sıcaklık değişimlerini tolere edebilecek fizyolojik yapıları ve yüksek yapılı organizmaların hücre yapılarına benzemeleri nedeniyle ökaryotlar içinde en çok çalışılan gruptur. *Saccharomyces cerevisiae*'nin hem diploid hem haploid soylarında, *Saccharomyces pompe*'nin ise sadece haploid soylarında gen mutasyonları için genotoksisite çalışmaları yapılmaktadır [Çelik, 2003; Öztürk ve ark., 2005].

Genotoksik, mutajenik, kanserojenik ve sitotoksik potansiyelin belirlenmesi için *in vivo* testlerle beraber *in vitro* testler de uygulanmaktadır. Günümüzde yaygın olarak kullanılan *in vitro* genotoksisite testleri; kromozomal anormallik (KA), kardeş kromatid değişimi (KKD), mikronükleus (MN) ve comet (SCGE) testleridir.

#### **2.4.1. Kromozomal anormallik (KA) testi**

Kromozomal anormallik testi (KA), Perry ve Evans (1975)'in bilinen mutajen ve kanserojenlerin KA'yı uyardığını saptamalarından sonra sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır [Perry ve Evans, 1975]. Teknik, kültüre alınmış periferel kan lenfositlerinde kromozomal anormallik sıklıklarının değerlendirilmesi ile genotoksik hasarın boyutunun belirlenmesini sağlar [Çakmak, 2000]. Kromozomal anormallikler DNA düzeyindeki hasarın bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Kromozom kırıkları DNA'daki onarılmamış çift zincir kırıklarından, yeni yapıya sahip kromozomlar ise DNA'daki zincir kırıklarının yanlış onarılmasından kaynaklanmaktadır [Atlı-Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011]. İnsan popülasyonları üzerinde yapılan çalışmalar, periferel lenfositlerdeki kromozomal anormallik frekansları ile kanser oluşumu arasında pozitif korelasyon olduğunu ortaya koymaktadır [Parra-Delgado ve ark., 2005; Doak ve ark., 2012].

Kromozomal değişimler mitotik metafaz kromozomlarında değerlendirilir [Çakmak, 2000]. Kromozom kırığı, kromatid kırığı, fragment, disentrik kromozom, kardeş kromatidlerde birleşme (sister union), halka kromozom, kromatid değişimi (triradial, quadriradial şekiller), gap, translokasyon, inversiyon gibi yapısal; poliploidi ve endoreduplikasyon gibi sayısal kromozom aberasyonları meydana gelebilir [Mateuca ve ark., 2006; Doak ve ark., 2012]. Primer olarak oluşan hasarlar DNA sarmal kırılmaları veya baz değişiklikleridir. DNA kırılmaları ya DNA tek sarmalını ya da birbirini tamamlayan iki sarmalı aynı anda etkileyebilir. Buna göre bir çift sarmal kırığı iki tek sarmal kırığından oluşur. Değişim tipi anormallikler (disentrik kromozom, translokasyon, halka kromozom) çift sarmal kırıklarının etkisiyle sekonder oluşan hasarlardır [Bender ve ark., 1988]. Yapılan çalışmalarda, hücredeki toksisitenin artmasıyla birlikte kromozomal aberasyonlarında arttığı belirtilmiştir [Speit ve Henderson, 2005; Zeiger, 2010].

#### **2.4.2. Kardeş kromatid değişimi (KKD) testi**

İnsan lenfositlerinde yaygın olarak kullanılan *in vitro* genotoksisite testlerinden bir diğeri de kardeş kromatid değişimi (KKD) testidir [Wilson III ve Thompson, 2007]. Klastojenlerin ve klastojenik aktivitenin belirlenmesinde KKD testi hassas bir metot olarak kullanılmaktadır [Montoro ve ark., 2012]. Kardeş kromatid değişimi, DNA sentezi esnasında kardeş kromatidlerde kırıkların oluşmasını, sentezlenen DNA iplikleri arasındaki fiziksel değişimleri ve bu kırıkların tekrar kardeş kromatidler ile birleşmesini içerir [Wilson III ve Thompson, 2007].

İlk defa 1957 yılında Taylor tarafından tanımlanmıştır. Kromozomların radyoaktif timidin ( $T^3$ ) varlığında bir defa kendilerini eşlemelerine ve sonraki replikasyonda da izotopun yokluğunda kendilerini eşlemelerine izin verilmiştir. Otoradyografide DNA'nın semikonservatif eşlenmesi sonucunda, her bir kromozomun sadece bir kromatidinin işaretlendiği görülmüştür. Bu işaretleme sonucunda kardeş kromatidler arasında simetrik değişimler gözlenmiş ve Taylor bunları "kardeş kromatid değişimi" olarak adlandırmıştır [Perry ve Thomson, 1984]. Latt tarafından 1973'te uygulanan yeni yöntemde, timidin analogu olan BrdU iki replikasyon döngüsünde bulunacak

şekilde kültür ortamına eklenmiştir. BrdU varlığında devam eden DNA sentezi sırasında yeni oluşan DNA'da timin yerine BrdU girer. Böylece her bir kromatid, bir timinli ve bir de BrdU'li DNA zinciri içerir. Mitoz sonrasında her bir kromatid farklı bir kardeş hücreye gider. BrdU'nin hücre döngüsü sırasında Timin bazının yerine girmesinin ardından, flöresan ışık altında ışınlanıp Giemsa ile boyanarak kardeş kromatidlerdeki kırıklar görünür hale getirilmiştir [Natarajan, 2002]. Boyama sonrası yapılan incelemede, bir kromatid iki tane BrdU içeren zincir taşıdığı için açık renkli, diğeri bir timinli bir de BrdU'li zincir taşıdığı için koyu renkli gözlenir [Perry ve Wolff, 1974]. Bu şekilde kardeş kromatidlerdeki değişimler tespit edilmektedir.

Kardeş kromatid değişiminin kesin moleküler mekanizması bilinmemesine rağmen, DNA hasarının ve yanlış DNA tamirinin KKD'ye neden olduğu düşünülmektedir [Bozkurt ve ark., 2004]. KKD'nin tek başına genotoksik riski belirlemede yetersiz olduğu düşünülmektedir. Bugüne kadar artmış KKD frekansı ile olumsuz sağlık etkisi arasında bir ilişki gösterilmemiştir [Preston ve ark., 2010]. Fakat, KKD genotoksik bir kimyasala maruz kalmanın biyolojik bir göstergesi olarak kabul edilmiştir. Bu nedenle deneysel çalışmalarda, insanlarda genotoksik etkileri göstermede indikatör bir test olarak kullanılmaya devam edilmektedir [Norppa ve ark., 2006; Preston ve ark., 2010].

### **2.4.3. Mikronükleus (MN) testi**

Mikronükleus tekniği (MN); (Cytokinesis-Blocked Micronucleus Assay=CBMN Assay); çeşitli kimyasal maddelerin ve fiziksel ajanların, memelilerde klastojenik ve anöjenik aktivitelerinin belirlenmesinde yaygın kullanılan bir test tekniğidir [Kirsch-Volders ve ark., 2011]. Mikronükleus (MN) yöntemi ilk olarak 1886 yılında anemik kedilerin kırmızı kan hücrelerinde Howell'ın gözlemleriyle ortaya çıkmıştır. 1907'de Jolly, mikronükleusların varlığını doğrulamıştır. Bu yüzden mikronükleuslar, hematolojide Howell-Jolly cisimleri olarak bilinirler [Çakmak, 2000]. Sitokinezin durdurulduğu mikronükleus yönteminde kullanılan sitokalsin-B (Cyt B), aktin polimeraz inhibitörü olup nükleer bölünmeyi durdurmadan, mitotik sitokinezi yani sitoplazmanın bölünmesini durdurur. Cyt B etkisiyle, hücre çekirdeği bölünürken,

sitoplâzma bölünmesi (sitokinez) durur ve iki nükleuslu (binükleat) hücreler ortaya çıkar [Kirkland, 2010; Kirsch-Volders ve ark., 2011].

Mikronükleuslar, spontan olarak ya da genotoksik ajanlara maruziyet sonucunda, asentrik kromozomal fragmentlerin ya da tüm kromozomların hücre bölünmesi sırasında, ana çekirdek dışında yavru çekirdek şeklinde kalmasından oluşmaktadır [Fenech, 2007; Kirsch-Volders ve ark., 2011]. Eğer MN oluşuma kromozomlardan kopan asentrik bir kromozom parçası neden olmuşsa, bu klastojenik bir olayın sonucu iken; eğer oluşuma neden olan olgu anafazda geri kalma ya da iğ ipliklerinin hasarından dolayı tüm bir kromozomsa bu duruma anöjenik bir ajanın neden olduğu belirtilmektedir [Fenech ve ark., 2003; Terradas ve ark., 2010; Cervantes-Rios ve ark., 2012].

Günümüzde mikronükleus metodu; genotoksisite ve sitotoksisite çalışmalarında; kromozom kırığı, kromozom kaybı, kromozom ayrılmaması (nondisjunction), kromozomların farklı şekillenmesi (nükleoplasmik köprüler), hücre bölünmesinin inhibe edilmesi, gen amplifikasyonu, nekrosis ve apoptozisin basit morfolojik ölçütler kullanılarak değerlendirilmesine yardımcı olmaktadır [Fenech, 2007]. MN, hücre siklusu kontrol noktaları bozulmuş hücrelerde, DNA tamir mekanizması zarar görmüş hücrelerde ve tümör hücrelerinde yüksek bulunmuştur [Terrades ve ark., 2010]. Yapılan çalışmalarda; insan periferik lenfositlerdeki artmış MN frekansının, kanser riskini önceden bildiren bir biyogösterge olarak kabul edildiği belirtilmiştir [Bonassi ve ark., 2007; Parry ve Kirsch-Volders, 2010; Preston ve ark., 2010].

#### **2.4.4. Comet (SCGE: Single cell gel electrophoresis) testi**

Son yıllarda geliştirilen comet testi [tek hücre jel elektroforezi (SCGE)] primer DNA hasarını ve tamirini belirlemede kullanılan hassas, güvenilir ve hızlı bir metodur [Kumaravel ve ark., 2009; Ghazalla ve ark., 2010]. Bu testin, çok düşük düzeydeki DNA hasarlarını bile ayırt edebilmesi, değişik hücre ve dokulara uygulanabilir olması, her uygulama grubu için az sayıda hücreye ihtiyaç göstermesi, hızlı sonuç elde edilebilmesi ve hücrelerdeki DNA kırıklarının görsel olarak belirlenebilmesi

gibi avantajları vardır [Tice ve ark., 2000; Piperakis, 2009; McArt ve ark., 2010]. Bu nedenle insanlarda kanserli hücrelerdeki DNA hasarını belirlemek için comet tekniği kullanılabilir [Kryston ve ark., 2011].

Comet testinde hücreler agar içine yerleştirilir ve DNA'ları lizis edilir. DNA'yı gevşetmek ve denatüre etmek için alkali elektroforez yapılır [Speit ve Hartmann, 2006]. Bu testte cometin baş kısmı hasarsız DNA, kuyruk kısmı ise hasarlı kırık DNA parçalarını içermektedir. DNA'nın negatif yüklü kırık uçları pozitif yüklü uca yani anoda doğru hareket ederler [Moller, 2006b]. Lenfosit hücresindeki DNA zincirlerinin kırılımı kuyruklu yıldız görünümünde olduğu için yöntem "comet" ismiyle adlandırılmıştır [Fairbairn ve ark., 1995; Liao ve ark., 2009].

İlk olarak 1984 yılında Ostling ve Johanson tarafından tek tek hücrelerde DNA hasarının direkt olarak gösterilmesinde uygulanmıştır [Fairbairn ve ark., 1995]. Daha sonra Singh ve ark. (1988) tarafından geliştirilen yöntem, çeşitli modifikasyonlarla genotoksisite ve apoptoz araştırmalarında sıklıkla kullanılır hale gelmiştir [Speit ve ark., 2004]. Nötral şartlarda gerçekleşen bu teknik ile DNA çift sarmal kırılmaları tespit edilirken, tek sarmal kırılmaları tespit edilememiştir. Oysaki DNA hasarına sebep olan çoğu ajan DNA çift sarmalından ziyade DNA tek zincirinde daha çok hasar meydana getirmektedir. Üstelik nötral koşullar altında çalışılan bu teknikte proteinler tam olarak uzaklaştırılmamaktadır [Ostling ve Johanson, 1984; Gökçe, 2012]. Singh ve arkadaşlarının (1984) geliştirdikleri teknik ile uygulanan daha güçlü lizis şartları sayesinde proteinlerin % 95'inden fazlası yok edilebilmektedir. Alkali elektroforez uygulaması ile çift zincir kırıklarının yanı sıra tek zincir kırıklarının, onarımı tamamlanmamış DNA bölgelerinin basit ve hassas bir şekilde belirlenmesi sağlanmıştır [Valverde ve Rojas, 2009; Ersson ve Moller, 2011].

Laboratuvarlarda; comet tekniğinin sonuçlarının değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan parametrelerde farklılıklar gözlenmektedir [Fairbairn ve ark., 1996; Bocker ve ark., 1997; Olive, 1999]. Sing ve arkadaşları (1988) hasarlı göç eden DNA'yı kuyruk uzunluğu ile değerlendirmektedir. Fakat Moller (2006a), kuyruk



uzunluğun tek başına comet görüntüsünü bir çizgi olarak yansıtamayacağını belirtmiştir. Kuyruk yoğunluğunun, gevşeyen ya da kırılan parçaların sayısını yansıttığı düşünülürken; kuyruk momentinin ise kuyruk uzunluğunun ve yoğunluğunun bir arada ifadesi olduğu belirtilmiştir [Fairbairn ve ark., 1995]. Olive ve ark, (1990) DNA göçünü kuyruk momenti parametresiyle ifade etmişlerdir. Buna göre, kuyruk momenti göç eden DNA'nın kuyruktaki DNA kırıklarından ortalama uzaklığını belirtir.

## **2.5. KBY'li Hastalarda Yapılan Genotoksisite Çalışmaları**

Kronik böbrek yetmezlikli hastalara uygulanan hemodiyaliz (HD) tedavisinin genom hasarına yol açması tartışmalı bir konudur. Yapılan bir çalışmanın sonuçlarına göre, günlük HD tedavisi gören hastaların, periyodik olarak HD tedavisi gören hastalara göre genomik hasar seviyelerinin daha düşük olduğu belirlenmiştir [Pernice ve ark., 2006]. Rangel-López ve arkadaşları (2013); hemodiyaliz tedavisi uygulanan hastalarda (n=35), mikronükleus ve comet testi ile genetik hasar seviyelerinde kontrole (n=61) göre önemli bir fark olmadığını tespit etmişlerdir. Fink ve arkadaşları (2007); üremik bir toksin olan homosisteinin genotoksik etkisini L5178Y ve HL60 hücre hatlarında mikronükleus ve comet testi ile araştırmışlardır. Buna göre; düşük konsantrasyondaki (3 mM) homosisteinin çalışılan her iki hücre hattında da mikronükleus frekansını artırdığını; ancak DNA hasarına yol açmadığını tespit etmişlerdir [Fink ve ark., 2007].

Kobras ve arkadaşları (2006); hemodiyaliz hastalarını; hemodiyalizin başlangıcında olan hastalar ve hemodiyalizin ileriki safhalarında olan hastalar ve hemodiyalizden hemodiafiltrasyona geçen hastalar olmak üzere üç grupta değerlendirmişlerdir. Buna göre; hemodiyalizin başlangıcında olan hastalarda ve hemodiyalizden hemodiafiltrasyona geçen hastalarda, kontrole göre mikronükleus frekansında ( $p<0.05$ ) ve comet DNA hasarında (hemodiyaliz,  $p<0.001$ ; hemodiafiltrasyon,  $p<0.0001$ ) artış olduğunu belirtmişlerdir. Fakat, hemodiyalizin başlangıcında olan hastalar, hemodiyalizin ileriki safhalarında olan hastalar ve hemodiyalizden hemodiafiltrasyona geçen hastalar birbiri ile karşılaştırıldığında; bu hastalar arasında

MN frekansında önemli düzeyde bir değişiklik olmadığını tespit etmişlerdir. Comet testinde ise; hemodiyalizden hemodiafiltrasyona geçen hastalar arasında DNA hasar yüzdesinde önemli düzeyde düşüş olduğu gözlenmiştir.

Schupp ve arkadaşları (2006); hemodiyaliz başlangıcında olan hastalarda, standart hemodiyalizden hemodiafiltrasyona geçen hastalarda ve günlük hemodiyalize giren hastalardaki genetik hasarı periferik lenfositlerde mikronükleus ve comet testleri ile araştırmışlardır. Buna göre; standart hemodiyalize giren hastalarda MN ve comet testleri ile genetik hasarda anlamlı bir değişiklik gözlenmemiş ancak standart hemodiyalizden hemodiafiltrasyona geçen hastalarda comet kuyruk DNA yüzdesinde düşüş belirlenmiştir. Ayrıca, günlük hemodiyalize giren hastaların MN frekansının, standart hemodiyalize giren hastalara göre anlamlı oranda düşük olduğu tespit edilmiştir.

Roth ve arkadaşları (2008) ise peritoneal diyaliz tedavisi uygulanan KBY'li hastalarda yaptıkları çalışmada; yanak epitelinde MN sıklığının kontrole göre değişmediğini belirlemişlerdir.

Buna karşın, yapılan diğer çalışmalarda hemodiyaliz tedavisi uygulanan KBY'li hastalarda genom hasarında artış belirtilmiştir. Ancak bu çalışmaların hemen hemen hepsinde genotoksisite testi olarak MN ve Comet testleri kullanılmıştır. KKD oranlarının incelendiği KBY hastalarıyla yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. KA testinin yapıldığı tek bir çalışma vardır. Goh ve Cestero 1979 yılında hemodiyaliz hastalarında kromozomal anormallik oranının arttığını tespit etmişlerdir. Sandoval ve arkadaşları (2010); kronik böbrek yetmezlikli hastalarda mikronükleus frekansında kontrole göre artış olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca, hastalarda böbrek fonksiyonlarının azalmasıyla birlikte genetik hasarın arttığı tespit edilmiştir. Uzun süreli hemodiyaliz tedavisi uygulanan KBY'li hastaların MN frekansında (hasta n=16;  $44.3 \pm 13.7$ , kontrol n=23;  $15.3 \pm 4.7$ ) [Stopper ve ark., 1999] ve ortalama DNA hasarında (kuyruk bölgesindeki DNA yüzdesi) (hasta n=23,  $14.7\% \pm 3.5\%$ ; kontrol n=21,  $10.5\% \pm 0.8\%$ ) kontrole göre artış olduğu belirtilmiştir [Stopper ve ark., 2001]. Ayrıca hemodiyaliz tedavisi uygulanmamış ilerlemiş böbrek yetmezliği olan

hastalarda (n=19; 28.2±9.4) MN frekansının kontrole göre (n=23; 15.3±4.7) anlamlı oranda arttığı tespit edilmiştir [Stopper ve ark., 1999].

Kan ve arkadaşları (2002) comet testiyle, HD tedavisi uygulanan KBY hastalarında DNA sarmal kırıklarında artış tespit etmişlerdir. Yapılan E vitamini takviyesinden sonra ise vitamin E'nin koruyucu etki göstererek DNA hasarını kontrole göre azalttığı belirlenmiştir.

Hemodiyalize giren hastaların yanak epiteli hücrelerinde mikronükleus testi ile yapılan bir çalışmaya göre; hastaların (n=20, MNC; 5.60±5.31) MN frekansının kontrole (n=40, 1.50±2.01, p<0.01) göre anlamlı oranda artmış olduğu belirtilmiştir. Ayrıca hemodiyaliz tedavi süresinin de MN frekansını artırdığını belirlemişlerdir. Yedi ve yedi yıldan fazla süreyle hemodiyaliz tedavisi uygulanan hastalarda (8.89±5.96, altı yıldan daha az süreyle hemodiyaliz tedavisi uygulanan hastalara (2.91±2.74) göre, mikronükleus miktarınının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (P<0.05) [Roth ve ark., 2008].

Aykanat ve arkadaşları (2011) kronik böbrek yetmezliği olan çocuklarda (n=49, 5.22±1.57), tedavinin başlangıcında olan hastalarda (n=17, 4.92±1.23), düzenli hemodiyalize giren hastalarda (n=15, 4.91±1.35) ve böbrek transplantasyonlu hastalarda (n=17, 5.79±1.94), DNA hasarının sağlıklı bireylerden (n=20, 2.74±2.91) istatistiksel olarak daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir (p<0.001). Ayrıca tedavinin başlangıcında olan hastalarda ve rutin hemodiyalize giren hastalarda, enzim modifiyeli comet testiyle oksidatif DNA hasarında kontrol grubuna göre artış olduğu belirtilmiştir (p<0.05). Stoyanova ve arkadaşları da (2010) hemodiyaliz tedavisi alan ve almayan 253 kronik böbrek yetmezlikli hastada oksidatif DNA hasarını modifiye comet testiyle araştırmışlar ve böbrek yetmezliğinin ilerlemesiyle genetik hasarın arttığını ve hemodiyalize giren hastalarda ise hasarın en yüksek seviyede olduğunu tespit etmişlerdir.

Yapılan bir diğer çalışmada; hemodiyalizin başlangıç aşamasında olan KBY'li hasta çocukların (PreD), düzenli hemodiyalize giren KBY'li hasta çocukların (HD) ve

transplant KBY'li hasta çocukların (Tx) periferik lenfositlerinde, MN sıklığının kontrol grubuna göre arttığı tespit edilmiştir [(PreD)  $9.19 \pm 2.61$  (16); (HD)  $9.07 \pm 4.86$  (15); (Tx)  $6.12 \pm 5.33$  (17) ve (kontrol grubu)  $1.60 \pm 0.99$  (20) ( $P < 0.001$ )] [Demircigil ve ark., 2011]. Fragedaki ve arkadaşları (2005); standart hemodiyaliz tedavisi uygulanan hastalarda ( $n=12$ ,  $29.1 \pm 5.9$ ), günlük hemodiyaliz tedavisi uygulanan hastalara ( $n=13$ ,  $14.8 \pm 4.0$ ) ve kontrole ( $n=12$ ,  $13.2 \pm 3.04$ ) göre mikronükleus frekansının önemli düzeyde arttığını belirtmişlerdir ( $P < 0.01$ ).

Periton diyaliz tedavisi gören hastalarda comet test tekniğini kullanılarak yapılan çalışmada; DNA hasarında anlamlı oranda artış gözlenmiştir. Ayrıca periton diyaliz tedavisi alan KBY'li hastalarda diyabetin olmasının, comet kuyruk uzunluğunu artırdığı belirtilmiştir [Nas, 2011].

Rangel-López ve arkadaşları (2013) ise; periton diyaliz hastalarındaki olası genetik hasarı mikronükleus ve comet testi ile değerlendirmişlerdir. Periton diyaliz tedavisi uygulanan hastaların mikronükleus frekansında ( $n=33$ ,  $41.9 \pm 14\%$ ) ( $P < 0.05$ ) ve comet kuyruk uzunluğunda ( $14.8 \pm 7\%$ ) kontrole göre ( $n=61$ ) anlamlı oranda artış belirlenmiştir ( $P < 0.001$ ).

Diyabetin eşlik ettiği KBY hastalarında genom hasarı üzerine yapılan çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Ersson ve arkadaşları (2012), hemodiyalize giren diyabetik ve diyabetik olmayan KBY'li hastalarda DNA hasarı frekansları bakımından önemli bir fark belirlememişlerdir. Buna karşın bazı çalışmalarda diyabetin genetik hasarı artırdığı tespit edilmiştir. Bagatini ve arkadaşları (2008), Tip 2 diyabetli KBY'li hastalardaki genetik hasarı hemodiyaliz uygulamasından önce ve sonra comet testi ile araştırmışlardır. Tip 2 diyabetli hastalarda kontrole göre DNA hasarında artış olduğu gözlenmiştir ( $n=25$  hasta,  $12.36 \pm 8.04$ ;  $n=20$  kontrol  $7.35 \pm 7.41$ ,  $p=0.014$ ). Hastalara hemodiyaliz uygulamasından sonra, DNA hasar seviyesinin daha da arttığı belirlenmiştir ( $19.76 \pm 12.40$ ,  $p=0.04$ ).

Dursun ve arkadaşları (2005), sadece diyabetik hastalarda ( $n=20$ ), hemodiyalize giren diyabetik ( $n=20$ ) ve diyabetik olmayan böbrek yetmezlikli hastalarda ( $n=20$ ) ve

kontrol grubunda (n=20) oksidatif stres seviyelerini incelemiştir. Buna göre tüm hasta gruplarında kontrole göre oksidatif stres seviyelerinde artış olduğunu ve süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidant enzimlerde ise azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca diyabet hastalığı da, hemodiyaliz tedavisinin kendisi de ayrı ayrı oksidatif stresi artırdıkları gibi, ikisi birlikteyse oksidatif stres düzeyinin en yüksek seviyeye ulaştığını belirtmişlerdir [Dursun ve ark., 2005].

Kronik böbrek yetmezliği olmayan fakat bu hastalığa yakalanma açısından birinci risk grubunda yer alan diyabetik hastalarda, genom hasarının belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalarda anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Çinkiliç ve arkadaşları (2009); kromozomal anormallik testiyle, Tip 1 diyabetli hastalarla kontrol grubu arasında önemli bir fark belirlememişlerdir. Yapılan bir diğer çalışmada; Tip 2 diyabetli hastalarda 8-hidroksi-2-deoksiganin (8-OhdG) ölçümü ile oksidatif DNA hasar düzeyinde kontrole göre anlamlı bir fark olmadığı belirtilmiştir [Tabak ve ark., 2011].

Buna karşın, bazı çalışmalarda KBY'den bağımsız diyabetik hastalarda genetik hasarın artırdığı belirtilmiştir. Sheth ve arkadaşları (2006), Tip 2 diyabetli hastaların kardeş kromatid değişimi frekansında kontrol grubuna kıyasla artış olduğunu belirlemişlerdir (n=20 hasta,  $7.81 \pm 0.63$ , n=15 kontrol,  $6.18 \pm 0.32$ , sırasıyla,  $P < 0.001$ ). Çinkiliç ve arkadaşları (2009); Tip 1 diyabetli hastalarda serbest radikal oluşumuna bağlı olarak kardeş kromatid değişimi frekansının sağlıklı bireylerden yüksek olduğunu belirtmişlerdir (n=35,  $5.44 \pm 1.47$ ; n=15,  $2.54 \pm 0.82$  sırasıyla,  $p < 0.001$ ).

Sardaş ve arkadaşları (2001), diyabetli hastalarda reaktif oksijen türevlerinin varlığının periferik lenfositlerde DNA hasarını artırdığını comet testi ile belirlemişlerdir. Bunun için, 15'i Tip 1 diyabetli, 48'i Tip 2 diyabetli 63 hastada ve 30 sağlıklı kontrolde comet testini uygulamışlardır. Hastalarda DNA hasar seviyesinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). İnsüline bağımlı diyabetik hasta grubunda ( $29.3 \pm 16.7$ ); insülden bağımsız

diyabetik hastalara göre ( $41.4 \pm 19.7$ ) hasarlı hücre frekansında önemli düzeyde düşüş olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ).

Kato ve arkadaşları (2003), diyabetik hastalarda serumdaki 8-oxodG'nin seviyesinde diyabetik olmayan hastalara göre artış olduğunu gözlemlemişlerdir. Pan ve arkadaşları (2007) ise, comet testi ve 8-hidroksi-2-deoksiguanin (8-OHdG) testi ile diyabetik nefropatili hastaların periferik lenfositlerinde oksidatif DNA hasarında, diyabetik hastalara ve kontrole göre artış tespit etmişlerdir.

Tabak ve arkadaşları (2011), Tip 2 diyabetli 69 hastada (20 hasta komplikasyonlu, 49 hasta komplikasyonsuz) ve 19 sağlıklı kontrolde 8-hidroksi-2-deoksiguanin (8-OHdG) ölçümü ile oksidatif DNA hasarını araştırmışlardır. Komplikasyonlu diyabetik hastalarda oksidatif DNA hasar düzeyinin komplikasyonsuz hasta grubundan daha yüksek olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.001$ ).

Al-Aubaidy ve arkadaşları (2011), Tip 2 diyabeti olan obez hastalarda oksidatif DNA hasarını 8-hidroksi-2-deoksiguanin (8-OHdG) ölçümü ile araştırmışlardır. Hastalarda oksidatif DNA hasarının kontrole göre arttığı belirtilmiştir (hasta  $1979.6 \pm 1209$  pg/ml, kontrol  $210.4 \pm 166$  pg/ml;  $P < 0.001$ ). Ayrıca, diyabetik hastalarda vücut kitle indeksi (VKİ) ile 8-hidroksi-2-deoksiguanin (8-OHdG) miktarı arasında pozitif korelasyon olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar, obezitenin ( $VKİ \geq 30.0$  kg/m<sup>2</sup>), kan glukoz seviyesini artırarak oksidatif DNA hasarına yol açtığını tespit etmişlerdir. Ayrıca, diyabetli hastalarda 8-hidroksi-2-deoksiguanin (8-OHdG) miktarı ile glisemik düzeyi ölçen hemoglobin A1c (HbA1c) değeri arasında pozitif korelasyon tespit etmişlerdir. Bu durum; hiperglisemi ve oksidatif DNA hasarı arasındaki artış ile ilişkilendirilmektedir.

Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda önemli mortalite nedenleri arasında kardiyovasküler hastalıklar [Türk Nefroloji Derneği, 2012], kanser ve immün yetmezlik sayılabilir [Descamps-Latscha ve ark., 1994; Maisonneuve ve ark., 1999]. Bu mortalite nedenlerinin altında yatan faktörler üremi, mikroinflamasyon ve oksidatif strestir [Tepel ve ark., 2000; Miyata ve ark., 2000]. Bu faktörler proteinlere,

membran lipidlerine, karbonhidratlara ve DNA'ya etki ederek oksidatif DNA hasarına sebep olurlar [Imlay ve Linn, 1988; Floccari ve ark., 2005; Pernice ve ark., 2006]. Kronik böbrek yetmezliğinde üremik durum ve diyaliz tedavisi, antioksidan dengenin bozulmasına sebep olur ve bu durumda reaktif oksijen türlerinin üretimine yol açan oksidatif stresle sonuçlanır [Tarnag ve ark., 2001; Giray ve ark., 2003; Köken ve ark., 2004; Antolini ve ark., 2005]. Erken yaşlanma, nörodejeneratif hastalıklar, diabetes mellitus, aterosklerozis, mutagenез ve karsinogenез oksidatif DNA hasarının genetik sonuçlarıdır [Imlay ve Linn, 1988; Loft ve Poulsen, 1996; Martinet ve ark., 2002]. Oksidatif DNA hasarı kromozomların yapısında ve fonksiyonunda değişmelere sebep olmaktadır [Loft ve Paulson, 1996]. DNA'daki bu değişim kansere ve diğer kronik hastalıklara yol açabilir. KBY'li hastaların, kardiyovasküler hastalıklara [Sandoval ve ark., 2010; Güngör ve ark., 2013] ve kansere yakalanma sıklığında artış olduğu belirlenmiştir [Stopper ve ark., 2001; Roth ve ark., 2008; Sandoval ve ark., 2010; Zachara ve ark., 2011]. Bu da artmış genetik hasar ile ilişkilendirilmektedir [Stoyanova ve ark., 2010]. Genomik hasar özellikle artmış reaktif oksijen türevlerinin üretimi yoluyla, toksik faktörlerin ve mutajenlerin etkisini artırabilir [Stopper ve ark., 2005].

Literatüre göre; genotoksik etkileri incelenen hemodiyalize giren diyabeti olan ve olmayan kronik böbrek yetmezlikli hastalarla ilgili insan lenfositlerinde yapılmış sınırlı sayıda çalışma vardır. Bu nedenle çalışmamızda, hem diyabeti olan hem de diyabeti olmayan KBY'li hastalar kontrol grubu ve birbirleri ile karşılaştırılarak laboratuvar ve demografik bilgileri de göz önünde bulundurularak incelenmiştir. Ayrıca, KBY'li hastalardaki genetik hasarın diyabet gibi ilave bir risk faktörü varlığında daha da artmış olup olmadığının tespiti amaçlanmıştır. Bu hastalar ile yapılan dört farklı genotoksisite testi ile gerçekleştirilen başka bir çalışma bulunmamaktadır. Hemodiyalize giren diyabetik KBY'li hastalardaki genetik hasarı belirlemek; bu hastaların daha fazla risk altında olup olmadıklarının tespiti ve uygulanan tedavi yöntemlerinin gözden geçirilmesi bakımından önemli olabilir.

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Hasta ve Kontrol Grubu

Bu çalışma; hemodiyalize giren 25 diyabetik, 35 diyabetik olmayan olmak üzere 60 KBY'li hastada ve 26 sağlıklı bireyde (kontrol grubu), toplam 86 olguda gerçekleştirilmiştir. Araştırmada hastalara ait kan örnekleri, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji kliniğinde takip edilen hemodiyaliz hastalarından alınmıştır. Sağlıklı kontrol grubu, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Polikliniğine başvuran muayene ve rutin tetkiklerinde patolojik bulguya rastlanmamış bireylerden oluşturulmuştur.

Hastaların dosyaları Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı arşivinden elde edilmiştir. Çalışmaya alınan hastaların demografik, klinik ve laboratuvar özellikleri hasta dosyalarındaki kayıtlardan temin edilmiştir. Bu hastalara haftada 3 kez, dört saat süreyle hemodiyaliz tedavisi uygulanmaktadır. Çalışmaya alınan tüm hastalara ve kontrol grubuna, çalışmanın amacı ve uygulanacak genetik test hakkında bilgi verilmiştir. Çalışmaya başlamadan önce Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (Tarih: 25.06.2010, Karar no: 072).

Çalışmada, heparinli tüplere alınan hasta kan örneklerinden lenfosit kültürü yapılarak, genom hasarı değerlendirmelerinde yaygın olarak kullanılan genotoksisite test teknikleri olan kromozomal anormallik testi (KA), kardeş kromatid değişimi testi (KKD), mikronükleus testi (MN) ve Comet testleri uygulanmıştır. Hastanedeki hasta gruplarının farklı dağılımları nedeniyle uygulanan dört genotoksisite testinde çalışılan birey sayılarında farklılıklar bulunmaktadır.

Sağlıklı kontroller ve hasta grupları aşağıdaki klinik, laboratuvar ve demografik özelliklerine göre incelenerek karşılaştırılmıştır.

- Tüm KBY'li hastalar / Kontrol grubu
- Diyabeti olan KBY hastalar / Diyabeti olmayan KBY hastalar



- Hipertansiyonu olan KBY hastalar /Hipertansiyon olmayan KBY hastalar
- Hemodiyaliz tedavi süresi 5 ve 5 yılın ve altında olan KBY hastalar / Tedavi süresi 5 yılın üstünde olan KBY hastalar
- Yaşı 50'ın altında olan KBY hastalar / Yaşı 50'ın üstünde olan KBY hastalar
- Kadın KBY hastalar / Erkek KBY hastalar
- Vücut kitle ineksi (VKİ) 25 kg/m<sup>2</sup>'nin altında olan KBY hastalar / Vücut kitle ineksi (VKİ) 25 kg/m<sup>2</sup>'nin üstünde olan KBY hastalar
- Hemogloblin değeri 12 g/dL'nin altında olan KBY hastalar / Hemogloblin değeri 12 g/dL'nin üstünde olan KBY hastalar
- Parathormon (Pth) değeri 300 pg/ml'nin altında olan KBY hastalar / 300 pg/ml'nin üstünde olan KBY hastalar
- Ferritin (Fer) değeri 500 ng/ml'nin altında olan KBY hastalar / 500 ng/ml'nin üstünde olan KBY hastalar

Çalışmada kullanılan kimyasallar; Bromodeoksiüridin (Katalog No: 59-14-3), Mitomisin-C (Katalog No: 200-008-6), Kolkisin (Katalog No: 64-86-8), Sitokalsin-B (Katalog No: 14930-96-2), NaCl (Katalog No: 7647-14-5), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Katalog No: A585477452), C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>7</sub>.2H<sub>2</sub>O (Katalog No: K17645732), HNa<sub>2</sub>O<sub>4</sub>P [12 H<sub>2</sub>O] (Katalog No: A992379845), Nitrik Asit [HNO<sub>3</sub>] (Katalog No: 7697-37-2) *Sigma'dan*, EDTA (Katalog No: 6381-92-6), Tris (Katalog No: 77-86-1), NaOH (Katalog No: 1310-73-2), Triton X-100 (Katalog No: 9002-93-1), DMSO (Katalog No: 67-68-5), Düşük erime ısılı agar (LMA) (Katalog No: 9012-36-6), Yüksek erime ısılı agar (NMA) (Katalog No: 9012-36-6), EtBr (Katalog No: 1239-45-8), KCl (Katalog No: 7447-40-7) *Applichem'den*, Etil alkol-absolut (Katalog No: SZBA2560), Metil alkol (Katalog No: I624608208), HCl (Katalog No: K26702514), Glisial asetik asit (Katalog No: K41799956049), Giemsa (Katalog No: HX947066) *Merck'den*, Chromosome Medium B (Katalog No: F 5023), PBS (Katalog No: L 1825), Trypan Blue (Katalog No: L 6323), Biocoll (Katalog No: L 6115), PBS-Ca<sup>+2</sup> Mg<sup>+2</sup> free (Katalog No: L1825), RPMI 1640 Besi Yeri PAA Laboratories gmbH (Katalog No: E15-039), Fetal Bovine Serum (Katalog No: S0113) ve Fitohemoglutinin (Katalog No: M5030) *Biochrom'dan* temin edilmiştir.

### 3.1.1. Çalışmaya alınma ve dışlama kriterleri

#### Alınma kriterleri:

- 1) 18 yaş üstü Evre 5 kronik böbrek yetmezliği olup en az 6 aydır hemodiyaliz tedavisi uygulanan hastalar ve 18 yaş üstü sağlıklı bireyler (kontrol grubu).
- 2) Çalışmaya katılmaya gönüllü olan ve çalışma onam formunu imzalayan hastalar.

#### Dışlanma kriterleri:

- 1) Hemodiyaliz tedavisine düzenli uyum göstermeyen hastalar.
- 2) Malignite, kemoterapi veya immünsupresif tedavi alma öyküsü olan hastalar.
- 3) Çalışmaya katılmaya gönüllü olmayan ve onam formunu imzalamayan hastalar.

## 3.2. Metod

### 3.2.1. Kromozomal anormallik (KA) ve kardeş kromatid değişimi (KKD) testleri

İnsan periferik lenfositlerinde kromozomal anormallik (KA) testi Evans ve arkadaşlarının (1984) metoduna göre bazı değişikliklerle [Yüzbaşıoğlu ve ark., 2006], kardeş kromatid değişimi (KKD) testi ise Perry ve Wolff'un (1974) yöntemine göre bazı modifikasyonlarla [Speit ve Haupter, 1985] uygulanmıştır. Buna göre hemodiyaliz tedavisi uygulanan diyabetik ve diyabetik olmayan kronik böbrek yetmezlikli hastalardan ve sağlıklı kontrollerden alınan 1/10 oranında heparinize edilmiş periferik kan Chromosome Medium B besi ortamına ekilmiştir. Kanlar ile eş zamanlı olarak kültür tüplerine 50 µl fitohemoglutinin ve 10 µg/ml BrdU (5-Bromo-2-deoksiüridin=Bromodeoksiüridin) solüsyonundan ilave edilmiş ve 37°C'deki inkübatörde 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 70. saatinde her bir tüpe kolkisin (0.06µg/ml) solüsyonundan eklenmiştir. Süre sonunda tüpler 1200 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip üstte kalan sıvı (süpernatant) atılmıştır. Sonra bu tüplere, 0.075 M KCl (Potasyum klorür) hipotonik solüsyonundan ilave edilmiştir.

Daha sonra tüpler 10 dk. 1200 rpm'de santrifüj edilerek süpernatant atılmış ve 3:1 metanol:asetik asitten oluşan fiksatif ile yıkama gerçekleştirilmiştir. Bu işlem toplam üç kez tekrarlanmıştır. Son fiksatif işleminin sonunda tüpün dibinde kalan hücre topluluğu (0,5 -0,7 ml) homojen hale getirilerek preparatlar hazırlanmıştır. Hazırlanan bu preparatlar 24 saat oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır.

### **3.2.2. Mikronükleus (MN) testi**

Mikronükleus (MN) testinde Fenech (2000)'nin metodu bazı değişikliklerle [Kirsch-Volders ve ark., 2003] uygulanmıştır. Buna göre diyabetik ve diyabetik olmayan hemodiyaliz tedavisi uygulanan kronik böbrek yetmezlikli hastalardan ve sağlıklı kontrollerden alınan ve 1/10 oranında heparinize edilmiş periferik kan steril şartlarda Chromosome Medium B besi ortamına ekilmiştir. Bu ortama 50 µl fitohemoglutinin solüsyonundan ilave edilmiş ve kültür tüpleri 37°C'deki inkübatörde 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 44. saatinde sitokalsin-B ilave edilerek, hücrelerin sitokinezde durması sağlanmıştır. Kültür süresi bitiminde tüpler 1000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve üstte kalan sıvı (süpernatant) atılmıştır. Tüpün dibinde kalan ve hücreleri ihtiva eden 0,5-0,7 mL'lik çökelti homojenize edilerek, üzerlerine 0.075 M KCl (Potasyum klorür) hipotonik solüsyonundan ilave edilmiştir. Daha sonra tüplere 3:1 metanol:asetik asitten oluşan fiksatif çözeltisinden ilave edilmiştir. Fiksatifle yıkama işlemi toplam 3 kez yapılmıştır. Bu işlemler sonunda tüpün dibinde kalan 0,5-0,7 ml'lik hücre topluluğu homojen hale getirilmiş ve önceden temizlenmiş lamalar üzerine 10-15 cm yükseklikten damlatılmıştır. Hazırlanan preparatlar 24 saat oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır.

#### Preparatların boyanması

Hazırlanan preparatlar, kromozomal anormalliklerin, mikronükleusların ve mitotik indeksin belirlenmesi amacıyla, % 5'lik Giemsa'da (pH=6,8) 20-25 dakika boyanmıştır. Bir kromozoma ait kardeş kromatidlerin farklı boyanmasını gözlemek için ise Speit ve Haupter'in (1985) geliştirdikleri metod bazı modifikasyonlarla uygulanmıştır. Bu uygulamaya göre kurutulan preparatlar düz bir tepsiye konarak,

üzeri ince bir tabaka halinde olacak şekilde ışınlama solüsyonu (Sorensen tamponu, pH=6,8) ile kaplanmıştır. Bu preparatlar, 254 nm (nanometre) dalga boyunda ışık yayabilen UV lambası ile 10-13 dakika ışınlanmıştır. Süre sonunda preparatlar 60°C sıcaklıktaki 1xSSC (Sodyum klorür + Tri-Sodyum sitrat) solüsyonunda 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. Sonra, Sorensen tamponu ile hazırlanan % 5'lik Giemsa ile (pH= 6,8) boyanmıştır. Giemsa boyasından çıkarılan preparatlar, saf sudan geçirilerek fazla boyanın akması sağlanmış ve kurumaya bırakılmıştır. Oda sıcaklığında kurutulan preparatlar, DPX ile daimi hale getirilmiş ve mikroskopik incelemeye alınmıştır.

#### Kromozom anormalliklerinin ve mitotik indeksin saptanması

Hazırlanan preparatlardan her bir birey için; 100 hücrede kromozomal anormallikler ve 1000 hücrede mitotik indeks belirlenmiştir. Kromozom anormalliklerinin (KA) saptanmasında, incelenen toplam hücre içindeki anormal hücrelerin yüzdesi ve hücre başına düşen kromozom anormalliği sayısı belirlenmiştir. Mitotik indeksin (Mİ) saptanmasında ise; bölünen hücre sayısının toplam hücre sayısına oranı yüzde cinsinden hesaplanmıştır.

#### Kardeş kromatid değişiminin ve replikasyon indeksinin saptanması

Kardeş kromatid değişimi (KKD) için ise; hazırlanan preparatlardan her birey için, kromozomları iyi dağılmış, ikinci mitoz bölünme geçiren 25 metafaz incelenmiştir. Kardeş kromatid değişiminin saptanabilmesi için kültür ortamına, DNA'nın yapısında bulunan timin bazlarının analogu olan BrdU ilave edilmiştir. KKD sayısı, bir kromozomun açık boyanmış kromatidindeki koyu boyanmış parçaların veya koyu boyanmış kromatidindeki açık boyanmış parçaların sayılmasıyla, oluşan kırılma sayısına göre birli, ikili ve üçlü değişimler olarak değerlendirilmiştir.

Replikasyon indeksinin (RI) değerlendirilmesinde ise; hazırlanan preparatlardan her bir birey için 100 hücre incelenmiş ve birinci, ikinci ve üçüncü metafaz evresindeki

hücreler sayılmıştır. Replikasyon indeksinin hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$RI = [1x(M_1) + 2x(M_2) + 3x(M_3)]/n$$

$M_1$  : 1. Mitozdaki hücre sayısı

$M_2$  : 2. Mitozdaki hücre sayısı

$M_3$  : 3. Mitozdaki hücre sayısı

n = İncelenen toplam hücre sayısı

#### Mikronükleus frekansının ve nükleer bölünme indeksinin saptanması

Mikronükleus sayısını saptamak için Fenech [2000] ve Kirsch-Volders ve arkadaşları [2003] tarafından geliştirilen metod modifiye edilerek kullanılmıştır. Bunun için çekirdek bölünmesini tamamlamış, ancak sitoplazmik bölünmesini gerçekleştirememiş çift çekirdekli binükleat hücreler değerlendirilmiştir. Hazırlanan preparatlardan her birey için 1000 tane iki nükleuslu (binükleat) hücreler incelenmiştir. Hücreler 1 mikronükleuslu, 2 mikronükleuslu, 3 mikronükleuslu olmak üzere sayılmış ve aşağıdaki formül ile hücre başına düşen MN sayısı (MN/hücre) belirlenmiştir.

$$MN = [1x(1MN) + 2x(2MN) + 3x(3MN) + 4x(4MN)]/n$$

1 MN: 1 Mikronükleuslu hücre sayısı

2 MN: 2 Mikronükleuslu hücre sayısı

3 MN: 3 Mikronükleuslu hücre sayısı

4 MN: 4 Mikronükleuslu hücre sayısı

n: İncelenen toplam hücre sayısı

Ayrıca, her bir birey için 500 tane hücre sayılmış, bu hücreler arasından bir, iki, üç ve dört nükleuslu olanların sayıları saptanmış ve buna göre nükleer bölünme indeksi aşağıdaki formüle ile hesaplanmıştır.

$$NB\dot{I}=[(1 \times N_1)+(2 \times N_2)+(3 \times N_3)+(4 \times N_4)] / n$$

$N_1$ : 1 nükleuslu hücre sayısı

$N_2$ : 2 nükleuslu hücre

$N_3$ : 3 nükleuslu hücre sayısı sayısı

$N_4$ : 4 nükleuslu hücre sayısı

$n$ : Toplam hücre sayısı

### 3.2.3. Comet (SCGE) testi

İnsan periferik lenfositlerinde meydana gelen DNA hasarının comet analizi ile belirlenmesi için Singh ve arkadaşlarının (1988) kullandıkları metod bazı modifikasyonlarla izlenmiştir. Bireylerden alınan ve 1/10 oranında heparinize edilmiş periferik kanlar PBS (Fosfat Buffer Solution) ile süspanse edilmiştir. Daha sonra 100'er µl lenfosit ayırıcı solüsyonu olan Biocoll ilave edilmiştir. Ependrof tüpler 1060 rpm de 3 dakika santrifüj edilmiştir. Süre sonunda lenfosit izolasyonu yapılmış ve örnekler daha sonra çalışılmak üzere -80°C derin dondurucuda muhafaza edilmiştir [Hininger ve ark., 2004; Chuang ve Hu, 2004]. Yeterli örnek sayısına ulaşılnca örnekler -80°C derin dondurucudan çıkarılarak santrifüj edilmiştir. Daha sonra Low Melting Agar (LMA) ile lenfositler karıştırılarak önceden Normal Melting Agar (NMA) ile kaplanan lamlar üzerine yayılmıştır. Üzerleri 24X60 mm'lik lamelle kapatılmıştır. Lamlar bu şekilde 20-25 dakika buzdolabında bekletilmiştir. Süre sonunda lam üzerindeki lameller kaldırılarak içerisinde lizing solüsyonu (2,5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Tris, PH: 10'a ayarlanır) bulunan şale içerisine yerleştirilmiştir. Bu halde buzdolabında en az 1 saat bekletilmiştir. Lamlar şaleden çıkarılıp elektroforez tankında bulunan tampon içerisine konularak burada 20 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda 25 V 300 mA'de 20 dakika yürütülmüştür. Elektroforez sonrasında lamlar nötralizasyon tamponunda bekletilmiştir. İşlemler sonunda lamlar EtBr ile boyanarak üzerleri lamelle kapatılmıştır. Boyanan preparatlarda flörsan mikroskopta her bir birey için 100 hücre ölçümü yapılmıştır.

### Görüntü analizi ve comet sayımı

Görüntü analizinde, Olympus marka flörsan mikroskopta 400X büyütmede inceleme yapılmıştır. Çalışılan her bir birey için 100 hücre “Comet Assay IV, Perceptive Instruments Ltd., UK” analiz programı kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar kuyruk uzunluğu ( $\mu\text{m}$ ), % kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti cinsinden değerlendirilmiştir.

### **3.3. İstatistiksel Analiz**

Bu çalışmada, verilerin analizi için SPSS for Windows 16 programı kullanılmıştır. Normal dağılıma uyanlar ortalama ve standart sapma şeklinde verilmiştir. Normal dağılıma uymayan veriler ise; medyan ve minimum-maksimum tanımlayıcıları ile verilmiştir. İki grup arasındaki farklılık tespitinde normal dağılım gösteren veriler için parametrik *Students-t* testi, normal dağılıma uymayanlar için non-parametrik Mann Whitney U testi uygulanmıştır. Normal dağılan parametreler arasındaki korelasyon analizinde Pearson korelasyon analizi; normal dağılıma uymayan parametrelerin korelasyon analizinde ise Spearman’s korelasyon katsayısı kullanılmıştır. Anlamlılık  $p < 0.05$  düzeyinde değerlendirilmiştir.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1. Hastaların Genel Karakteristikleri

Hemodiyalize giren kronik böbrek yetmezliği (KBY) hastalarındaki olası genetik hasarı belirlemek amacı ile yaptığımız çalışmada, 25 diyabetik, 35 diyabetik olmayan olmak üzere toplam 60 hemodiyaliz tedavisi gören kronik böbrek yetmezlikli (KBY) hasta ve 26 sağlıklı birey değerlendirmeye alınmıştır.

Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri Çizelge 4.1’de sunulmuştur. Buna göre; hasta ve kontrol grubu arasında, yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi (VKİ), NA (sodyum), TKOL (total kolesterol), Hbsag ve Anti-Hbs dağılımı açısından anlamlı bir fark belirlenmemiştir. Bununla birlikte hemoglobin (HB), lökosit (WBC), trombosit (PLT), glukoz, alkalen transferaz (ALT), total protein (TPRO), albümin (ALB), kalsiyum (CA), kötü huylu kolesterol (LDL), iyi huylu (HDL) kolesterol ve Anti-Hcv (n) değerlerinin hastalarda kontrole göre istatistiksel olarak önemli düzeyde düştüğü belirlenmiştir. Buna karşın glukoz, alkalen fosfataz (ALP), üre (BUN), kreatin (CRE), ürik asit (UA), fosfor (P) ve potasyum (K) değerlerinin hastalarda kontrole göre anlamlı oranda azaldığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.1).

Hemodiyalize giren KBY’li hastalarda hemodiyaliz tedavi süresi 6 ila 156 ay arasında değişmektedir. Medyan değeri ise 48 olarak belirlenmiştir. Hasta grubu altta yatan primer hastalıklar açısından da incelenmiştir. 26 hastada diabetes mellitus, 9 hastada hipertansiyon, 7 hastada glomerulonefrit, 5 hastada primeri bilinmeyen ve 13 hastada diğer sebepler şeklinde bilgilere ulaşılmıştır (Çizelge 4.2). Hastaların serum demiri, demir bağlama kapasitesi, ferritin, parathormon, glisemik düzeyi ölçen hemoglobin A1c değeri, üre azalma oranı (Urr) ve diyalizin etkinliğini ölçen indeks (Kt/V) gibi parametrelerinin değerleri de Çizelge 4.2’de görülmektedir. Buna göre; hastaların serum demirinin (64.2 µg/dL) referans değerine (65-170 µg/dL) göre daha düşük çıktığı belirlenmiştir. Serum demirinin düşük çıkması demir eksikliği ve bunun sonucunda oluşan aneminin göstergesidir. KBY hastalarında anemi yaygın



görülen bir komplikasyondur. Demir bağlama kapasitesi değerinin (199 µg/dL) ise referans değerler (70-240 µg/dL) aralığında olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri

	<b>Hemodiyaliz (n=60) Medyan (Min-Maks)</b>	<b>Kontrol (n=26) Medyan (Min-Maks)</b>	<b>P+</b>
Yaş	57 (18-81)	40 (25-81)	0.207
Cinsiyet (E/K)	43/17 <b>b</b>	17/9 <b>b</b>	0.368
VKİ (kg/m <sup>2</sup> )	24.3±4.5 <b>a</b>	24.9±4.2 <b>a</b>	0.570
HB (g/dL)	11.4 (6.49-14)	14.9 (10-17)	<b>&lt;0.001</b>
WBC (K/mL)	5070 (4000-10990)	6230 (4480-8710)	<b>0.014</b>
PLT (K/mL)	140.650 (70.000-425.000)	229.000(48.000-4260000)	<b>&lt;0.001</b>
Glukoz (mg/dL)	96 (61-440)	83 (42-101)	<b>0.004</b>
ALT (U/L)	12 (6-42)	15.5 (8-103)	<b>0.006</b>
ALP (U/L)	86 (42-1558)	74.5 (42-127)	<b>0.006</b>
BUN (mg/dL)	59 (36-112)	12 (6-22)	<b>&lt;0.001</b>
CRE (mg/dL)	7.6 (2-14.6)	0.78 (0.50-0.98)	<b>&lt;0.001</b>
UA (mg/dL)	5.6 (2.9-9.5)	3.85 (2.2-7.9)	<b>&lt;0.001</b>
TPRO (g/dL)	6.7 (5.8-8.4)	7.4 (6.6-8.1)	<b>&lt;0.001</b>
ALB (g/dL)	3.6 (2.9-4.4)	4.3 (3.9-5.1)	<b>&lt;0.001</b>
CA (mmol/L)	8.6 (7.6-9.89)	9.2 (8.4-9.7)	<b>&lt;0.001</b>
P (mmol/L)	4.4 (1.8-8.5)	3.3 (2.2-4.7)	<b>&lt;0.001</b>
NA (mmol/L)	137 (127-143)	138 (133-141)	0.165
K (mmol/L)	5.1 (3.6-7.6)	4.2 (3.7- 4.6)	<b>&lt;0.001</b>
TKOL (mmol/L)	151 (82- 260)	166 (102- 274)	0.140
HDL (mmol/L)	32 (17-61)	46 (29-71)	<b>&lt;0.001</b>
LDL (mmol/L)	82 (32-171)	95 (67-186)	<b>0.032</b>
Hbsag(n) pozitif / negatif	2 / 58 <b>b</b>	0 / 26 <b>b</b>	0.484
Anti-Hbs(n) pozitif/negatif	49 / 11 <b>b</b>	20 / 6 <b>b</b>	0.407
Anti-Hcv(n) ozitif/negatif	1 / 59 <b>b</b>	0 / 26 <b>b</b>	<b>&lt;0.001</b>

*a=Mean±Standart sapma; Medyan (Min-Maks): Ortanca (Minimum-Maksimum); b= birey sayısı; VKİ: vücut kitle indeksi; WBC: lökosit; HB: hemoglobin, PLT: trombosit; ALT: alkalin transferaz; ALP: alkalin fosfataz; BUN: üre; CRE: kreatin, ÜA: ürik asit, TPRO: total protein, ALB: albümin, CA: kalsiyum, P: fosfor, NA: sodyum; K: potasyum; TKOL: total kolesterol; HDL: kötü huylu kolesterol; LDL: iyi huylu kolesterol; Hbsag: Hepatit B; Anti-Hbs: Anti-Hepatit B; Anti-Hcv: Anti-Hepatit C.*

KBY'li hastaların ferritin (481 µg/dL) ve parathormon (221 pg/ml) değerlerinin de referans değerlerinden (ferritin; 80-310 µg/dL, parathormon; 11-67 pg/ml) oldukça yüksek olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.2). Serum ferritinin yüksek olmasının sebebi, hemodiyaliz hastalarında görülebilen kronik inflamasyon ya da enfeksiyonlardan kaynaklanabilir. Parathormon değerindeki artışlar ise KBY hastalarında aktif D vitamini eksikliği ile ilişkilendirilebilir. Glisemik düzeyi ölçen hemoglobın A1c değerinin de (7.65) referans değerden (3.9–6.0) yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durum diyabetik KBY'li hastalarda hedeflenen HbA1c değerine ulaşamadığını göstermektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, hedeflenen HbA1c değeri 7 ve 7'nin altı olarak belirlenmiştir. KBY'li hastaların ortalama Kt/V değeri 1.51 olarak belirlenmiştir. Bu sonuç hastalarda hemodiyalizin yeterli oranda yapıldığını göstermektedir (referans değeri 1.2 üstü). Hastaların Urr değeri ise 72.4 olarak tespit edilmiştir. Urr değerinin en az %70 olmalıdır. Bu sonuç bize hastalara yeterli oranda diyalizin yapıldığını göstermektedir.

Çizelge 4.2. Hemodiyalize giren hastaların klinik ve laboratuvar özellikleri

Özellikler	N=
Hemodiyaliz süresi (ay)	48 (6-156) <b>b</b>
<u>Primer hastalık</u>	
Diabetes mellitus	26 ( %43.3)
Hipertansiyon	9 (% 15)
Glomerulonefrit	7 (% 11.7)
Bilinmiyor	5 (%8.3)
Diğer	13 (%21.7)
Serum demiri	64. 2±27.3 <b>a</b>
Demir bağlama kapasitesi	199 ±34 <b>a</b>
Ferritin	481 ±250 <b>a</b>
Parathormon	221 (3.2-3680) <b>b</b>
HbA1c ( <b>Diyabetik hastalarda</b> )	7.65±1.6 <b>a</b>
HCO <sub>3</sub>	20.4 (16-30) <b>b</b>
Urr	72.4±6.1 <b>a</b>
Kt/V	1.51±0.29 <b>a</b>

*a=Mean±Standart sapma; b=Medyan (Minumum-Maksimum); HbA1c:Hemoglobın a1c; HCO<sub>3</sub>: Bikarbonat; Urr: Üre azalma oranı; Kt/V: Diyaliz etkinliğini ölçen indeks.*

#### 4.2. Kromozomal Anormallik (KA) Testi Sonuçları

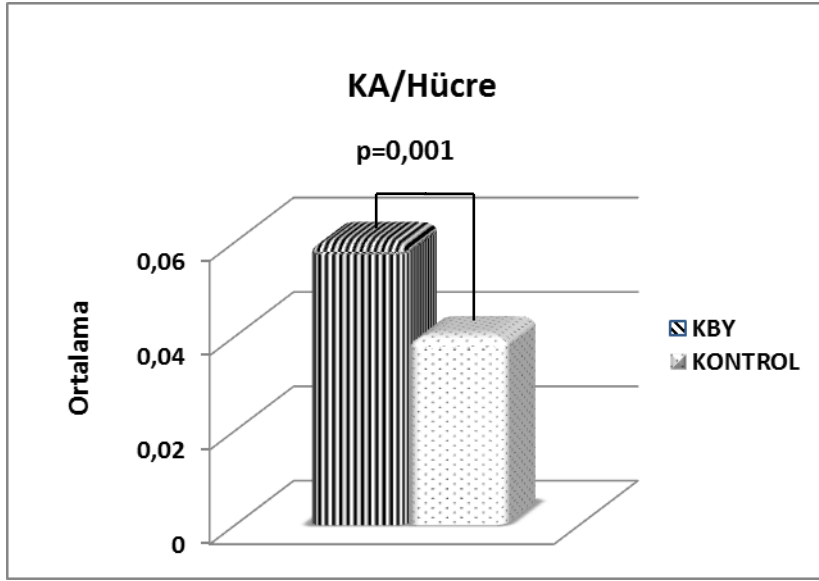
Kromozomal anormallik (KA) testi; 21 diyabetik ve 31 diyabetik olmayan olmak üzere toplam 52 hemodiyalize (HD) giren kronik böbrek yetmezlikli (KBY) hastada ve 24 sağlıklı bireyde (kontrol grubu) değerlendirilmiştir.

Hastalarda beş tip yapısal ve iki tip sayısal olmak üzere toplam yedi tip kromozomal anormallik belirlenmiştir. KBY'li hastalarda gözlenen yapısal anormallikler; kromatid kırığı, kromozom kırığı, fragment, kardeş kromatidlerde birleşme ve disentrik kromozomdur. Ayrıca, bu hastalarda sayısal anormallikler olan poliploidi ve endoreduplikasyona da rastlanmıştır. Lenfositlerde gözlenen kromozomal anormallik tipleri, hücre başına düşen kromozomal anormallik sayısı ve anormal hücre frekansları Çizelge 4.3' te verilmiştir. KBY'li hastaların anormal hücre oranı ve hücre başına düşen anormallik (KA/hücre) frekanslarında kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı oranda artış olduğu belirlenmiştir ( $p=0,001$ ). Fakat diyabetik KBY hastaları ile diyabetik olmayan KBY hastaları arasında; anormal hücre oranı ve hücre başına düşen anormallik (KA/hücre) frekansları bakımından anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Kronik böbrek yetmezliğine götüren etyolojik etkenlerden biri de hipertansiyondur. Hipertansiyonlu KBY'li hastalarla, hipertansiyonu olmayan KBY'li hastalar arasında da anormal hücre oranı ve hücre başına düşen anormallik (KA/hücre) frekanslarını bakımından anlamlı bir fark belirlenmemiştir. Çalışmamızda hemodiyaliz tedavi süresi arttıkça anormal hücre oranının ve hücre başına düşen anormallik (KA/hücre) frekansının arttığı, ancak bu artışın anlamlı olmadığı gözlenmiştir. Bununla birlikte, ferritin değeri 500 ng/ml'ün üzerinde olan KBY'li hastalarda; anormal hücre oranı ve hücre başına düşen anormallik (KA/hücre) frekanslarında artış gözlenmiş, fakat bu artışın anlamlı olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi, hemoglobin ve parathormon değerlerine göre yapılan kıyaslamalarda da KA frekansı bakımından istatistiksel olarak önemli oranda bir fark tespit edilmemiştir (Çizelge 4.3; Şekil 4.1-4.2; Resim 4.1).

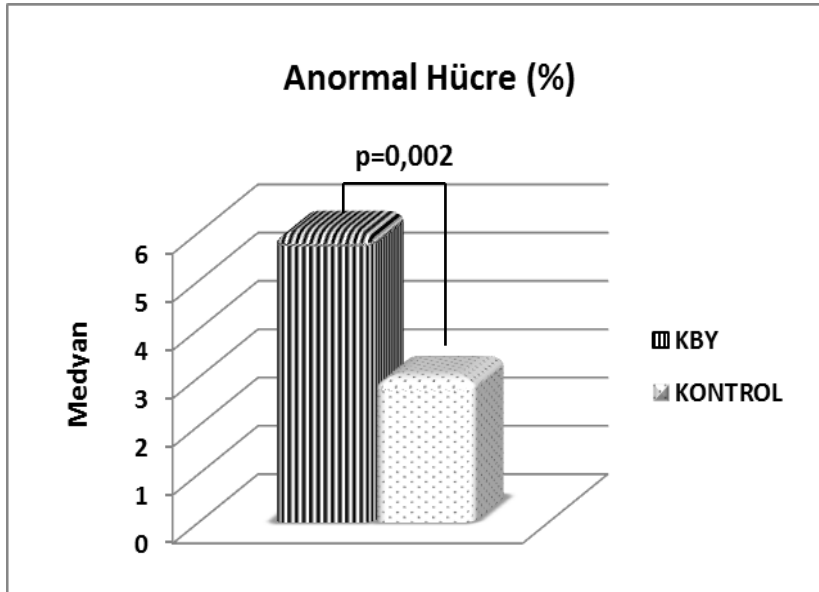
Çizelge 4.3. Kromozomal anormallik (KA) testi sonuçları

	Anormallikler							KA/Hücre		Anormal Hücre (%)	
	ktk	kzk	f	kkb	ds	p	e	Mean±SD	P <sup>+</sup>	Mean±SD	P <sup>+</sup>
<b>KBY</b> n=52	239	25	22	29	7	21	2	0,06±0,03	0,001	6 (1-15) a	0,002
<b>KG</b> n=24	73	2	1	10	3	11	-	0,04±0,02		3 (2-10) a	
<b>DM (+)</b> n=21	84	9	8	11	3	12	-	0,06±0,03	0,372	5,95±3,30	0,554
<b>DM (-)</b> n=31	155	16	14	18	4	9	2	0,07±0,03		6,61±3,40	
<b>HT (+)</b> n=9	53	7	1	5	-	1	-	0,08±0,03	0,276	7,50±3,50	0,281
<b>HT (-)</b> n=43	186	18	21	24	7	20	2	0,06±0,03		6,00±3,30	
<b>YIL ≤5</b> n=32	139	8	17	19	3	14	-	0,06±0,03	0,478	6,25±3,53	0,514
<b>YIL &gt;5</b> n=20	100	17	5	10	4	7	2	0,07±0,03		6,84±3,60	
<b>YAŞ ≤50</b> n=19	100	13	12	9	3	6	1	0,07±0,03	0,152	7 (2-15) a	0,225
<b>YAŞ &gt;50</b> n=33	139	12	10	20	4	15	1	0,06±0,03		6 (1-12) a	
<b>KADIN</b> n=16	86	12	7	9	1	7	-	0,08±0,04	0,081	8 (1-15) a	0,110
<b>ERKEK</b> n=36	153	13	15	20	6	14	2	0,06±0,02		5 (2-12) a	
<b>VKİ ≤25</b> n=33	156	18	14	19	6	13	2	0,07±0,03	0,241	7 (2-15) a	0,254
<b>VKİ &gt;25</b> n=18	75	7	6	9	-	8	-	0,06±0,03		5 (1-12) a	
<b>HB ≤12</b> n=38	186	18	15	23	4	16	2	0,07±0,03	0,205	6,7 (1-15) a	0,258
<b>HB &gt;12</b> n=14	53	7	7	6	3	5	-	0,05±0,02		5,4 (2-10) a	
<b>PTH ≤300</b> n=33	150	16	14	21	6	16	2	0,07±0,03	0,660	6 (2-15) a	0,767
<b>PTH &gt;300</b> n=19	89	9	8	8	1	5	-	0,06±0,03		6 (1-14) a	
<b>FER ≤500</b> n=33	142	11	17	13	3	18	-	0,06±0,03	0,363	5,94±3,20	0,311
<b>FER &gt;500</b> n=19	97	14	5	16	4	3	2	0,07±0,04		7,05±3,60	

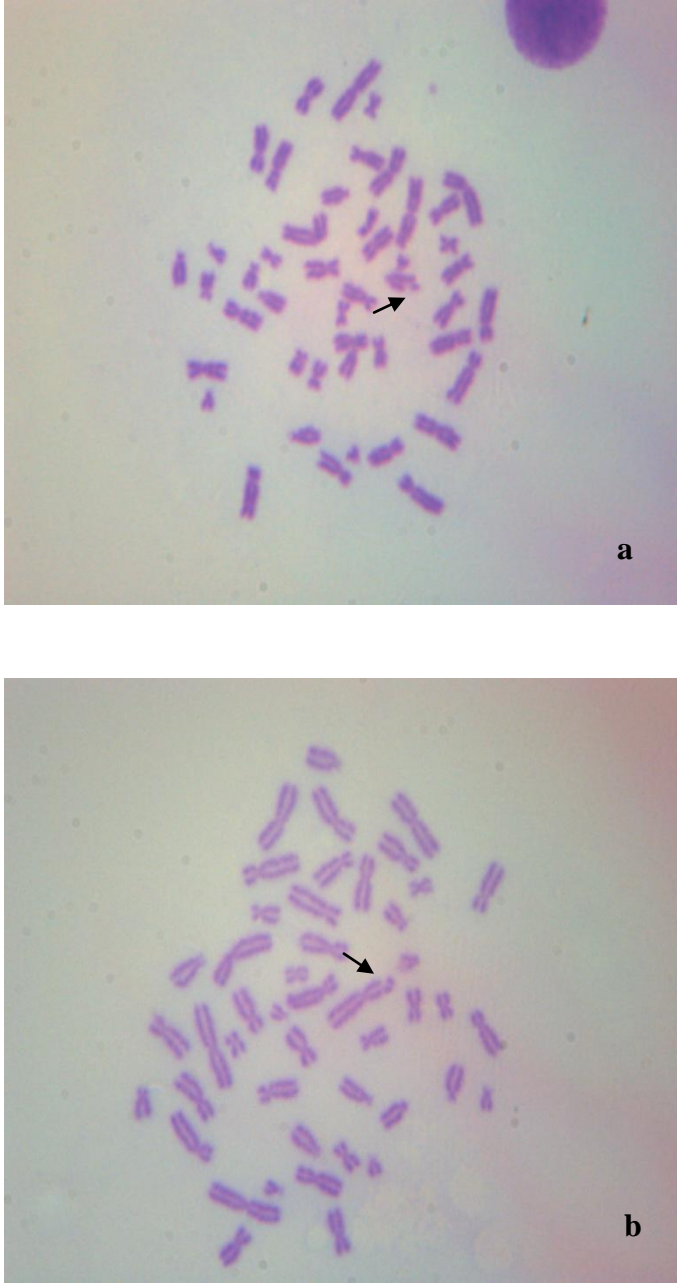
ktk: kromatid kırığı, kzk: kromozom kırığı, f: fragment, kkb: kardeş kromatidlerde birleşme, ds: disentrik kromozom, p: poliploidi, e: endoreduplikasyon, a= Medyan (Minimum-Maksimum); KBY: Kronik böbrek yetmezlikli hasta; KG: Kontrol Grubu; DM (+): Diyabeti olan KBY hastası, DM (-): Diyabeti olmayan KBY hastası; HT (+): Hipertansiyonu olan KBY hastası; HT (-): Hipertansiyonu olmayan KBY hastası; VKİ: Vücut kitle indeksi; HB: Hemoglobin; PTH: Parathormon, FER: Ferritin.



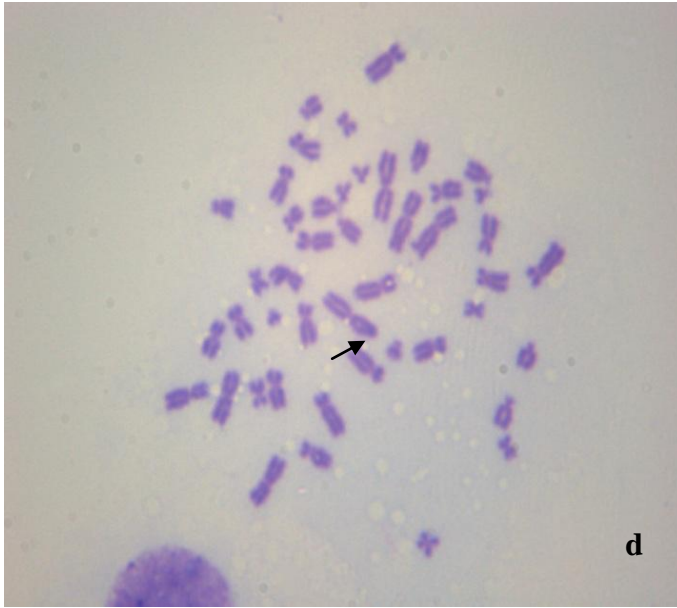
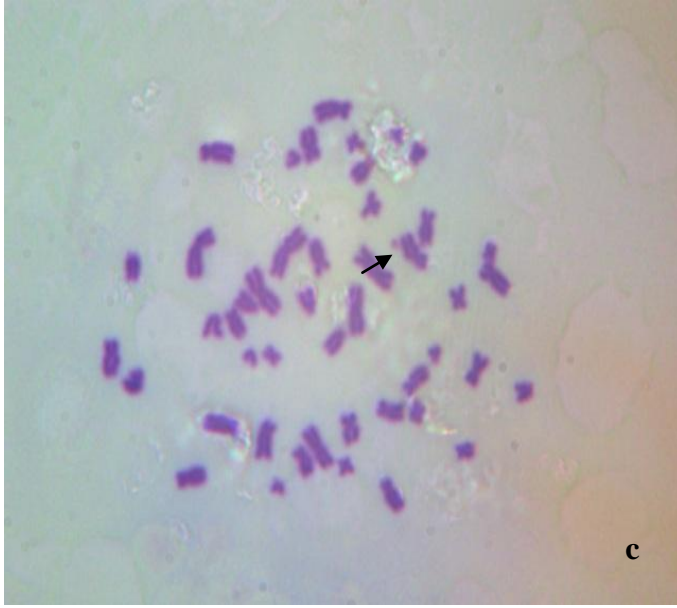
Şekil 4.1. KBY’li hastaların ve kontrol grubunun hücre başına düşen anormallik (KA/Hücre) değerlerinin dağılımı



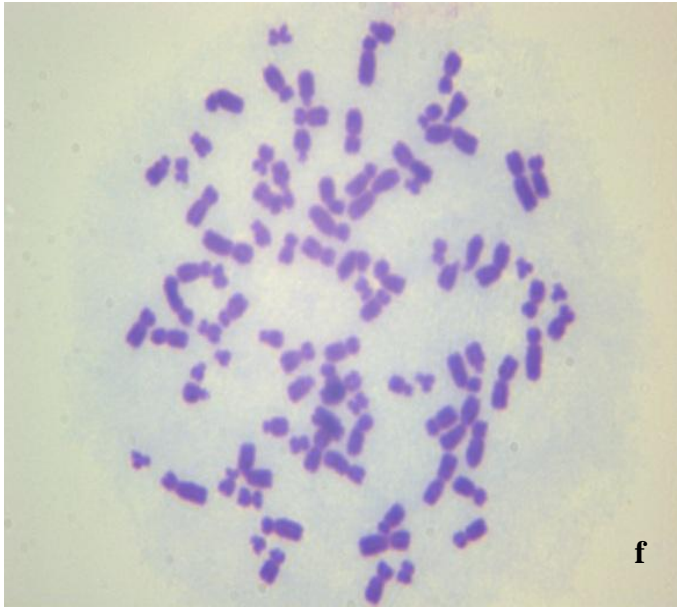
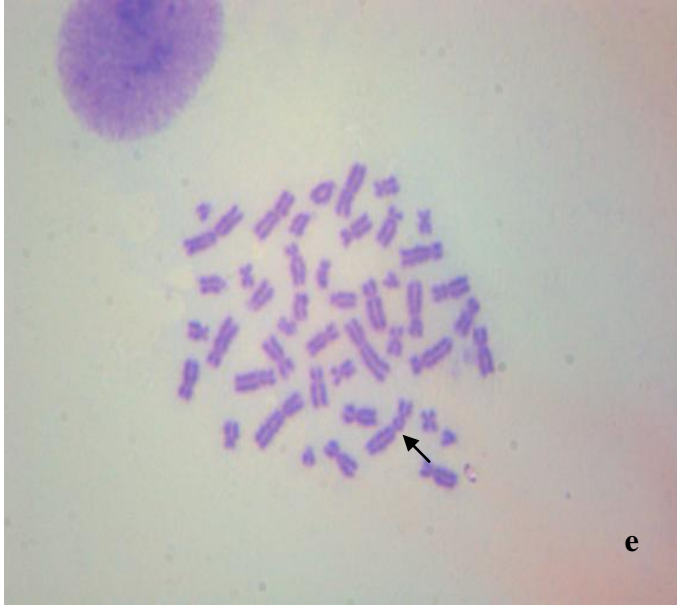
Şekil 4.2. KBY’li hastaların ve kontrol grubunun anormal hücre yüzdesi değerlerinin dağılımı



Resim 4.1. Kronik böbrek yetmezlikli hastaların lenfositlerinde gözlenen kromozomal anormallikler a) kromatid kırığı, b) kromozom kırığı

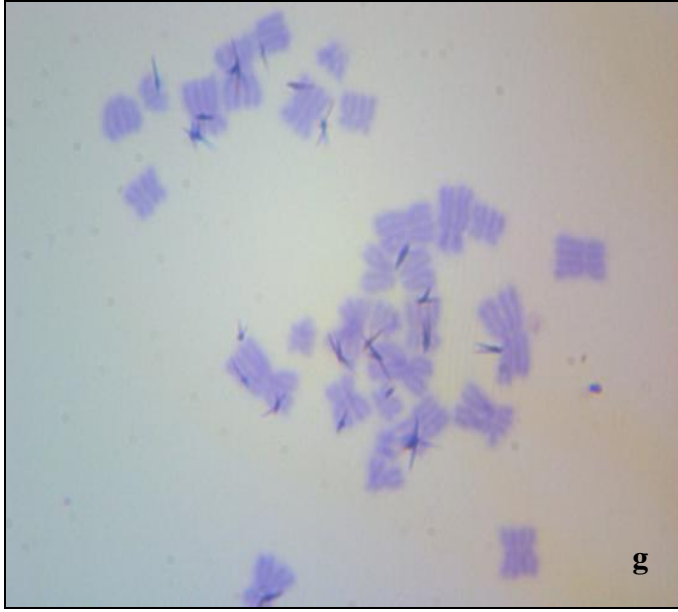


Resim 4.1. (Devamı) Kronik böbrek yetmezlikli hastaların lenfositlerinde gözlenen kromozomal anormallikler c) fragment, d) kardeş kromatidlerde birleşme



Resim 4.1. (Devamı) Kronik böbrek yetmezlikli hastaların lenfositlerinde gözlenen kromozomal anomallikler e) disentrik kromozom, f) poliploidi





Resim 4.1. (Devamı) Kronik böbrek yetmezlikli hastaların lenfositlerinde gözlenen kromozomal anormallikler g) endoreduplikasyon

### 4.3. Mitotik İndeks (Mİ) Sonuçları

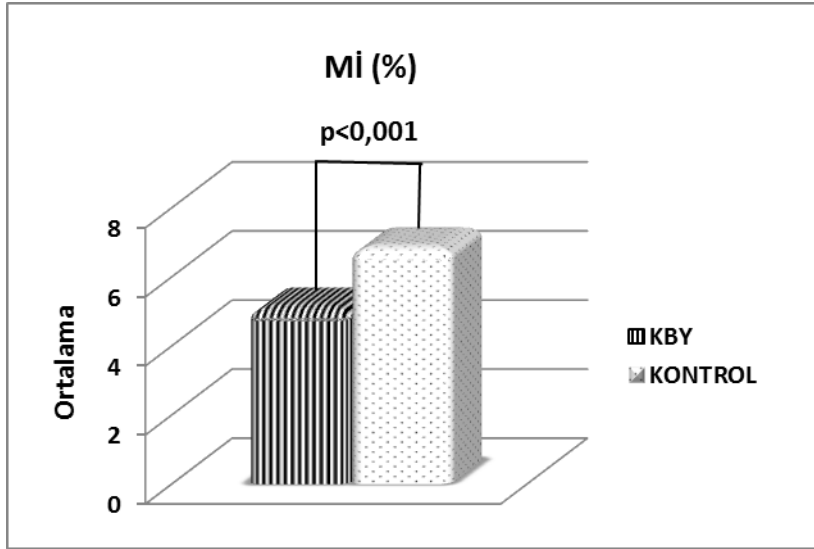
Hasta ve kontrol gruplarının mitotik indeks (Mİ) değerleri de hesaplanmıştır (Çizelge 4.4). Mitotik indeks için; 21 diyabetik ve 31 diyabetik olmayan olmak üzere toplam 52 hemodiyalize (HD) giren kronik böbrek yetmezlikli (KBY) hasta ve 24 sağlıklı birey (kontrol grubu) değerlendirilmeye alınmıştır.

KBY'li hastalarda Mİ'in kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda azaldığı belirlenmiştir ( $p < 0.001$ ) (Şekil 4.3). Fakat diyabetik ve diyabetik olmayan KBY hastaları birbiri ile karşılaştırıldığında; diyabetik hastaların mitotik indeksinde düşüş gözlenmiş, bu düşüşün istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca mitotik indeks değerleri bakımından hipertansiyonlu hastalar ile hipertansiyonu olmayan KBY'li hastalar arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Çalışmamızda hemodiyaliz tedavi süresinin Mİ'i etkilemediği gözlenmiştir. Ferritin değeri 500 ng/ml'ün üzerinde olan KBY'li hastalarda mitotik indeks önemli düzeyde düşmüştür (Şekil 4.4). Fakat; yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi (VKİ), hemoglobin ve parathormon değerlerine göre yapılan kıyaslamalarda ise Mİ değerlerinin istatistiksel olarak etkilenmediği tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

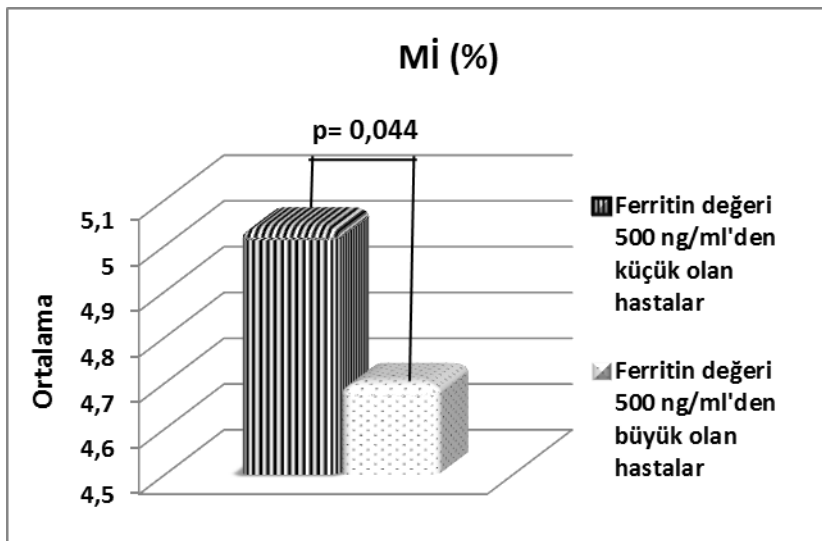
Çizelge 4.4. Mitotik indeks (Mİ) sonuçları

	<b>Mİ ± SD</b>	<b>P*</b>
<b>KBY</b> n=52	<b>5,09± 0,50</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>KG</b> n=24	<b>6,83±0,35</b>	
<b>DM (+)</b> n=21	4,86 ± 0,50	0,345
<b>DM (-)</b> n=31	5,00 ± 0,48	
<b>HT (+)</b> n=9	4,99 ± 0,43	0,738
<b>HT (-)</b> n=43	4,93 ± 0,51	
<b>YIL≤5</b> n=32	5,05 ± 0,53	0,992
<b>YIL&gt;5</b> n=20	5,16 ± 0,48	
<b>YAŞ ≤50</b> n=19	4,93 ± 0,52	0,861
<b>YAŞ &gt;50</b> n=33	5,23 ± 0,47	
<b>KADIN</b> n=16	5,06 ± 0,52	0,196
<b>ERKEK</b> n=36	4,89 ± 0,47	
<b>VKİ≤25</b> n=33	4,91 ± 0,49	0,642
<b>VKİ&gt;25</b> n=18	5,01 ± 0,51	
<b>HB≤12</b> n=38	4,92 ± 0,48	0,562
<b>HB&gt;12</b> n=14	5,01 ± 0,54	
<b>PTH≤300</b> n=33	4,95 ± 0,49	0,886
<b>PTH&gt;300</b> n=19	4,92 ± 0,49	
<b>FER≤500</b> n=33	<b>5.04 ± 0.50</b>	<b>0.044</b>
<b>FER&gt;500</b> n=19	<b>4.70 ± 0.40</b>	

*Mİ: Mitotik indeks; SD= Standart sapma; KBY: Kronik böbrek yetmezlikli hasta; KG: Kontrol Grubu; DM (+): Diyabeti olan KBY hastası, DM (-): Diyabeti olmayan KBY hastası; HT (+): Hipertansiyonu olan KBY hastası; HT (-): Hipertansiyonu olmayan KBY hastası; VKİ: Vücut kitle indeksi; HB: Hemoglobin; PTH: Parathormon, FER: Ferritin.*



Şekil 4.3. KBY'li hastaların ve kontrol grubunun mitotik indeks (Mİ) değerlerinin dağılımı



Şekil 4.4. KBY'li hastaların ferritine göre mitotik indeks (Mİ) değerlerinin dağılımı

KBY'li hastalarda anormal hücre sayısı, hücre başına düşen anormallik ve Mİ değerleri ile hemodiyaliz süresi, yaş, ferritin, üre azalma oranı (Urr) ve diyaliz etkinliğini ölçen indeks (Kt/V) parametreleri arasındaki ilişki incelenmiştir. Korelasyon analizleri Çizelge 4.5'te verilmiştir. Buna göre; diyaliz süresi arttıkça anormal hücre yüzdesi ve hücre başına düşen anormallik frekansının arttığı, ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ( $r=0.044$ ,  $p=0.756$ ;  $r=0.037$ ,  $p=0.797$ , sırasıyla). Urr, Ktv değerleri arttıkça anormal hücre sayısı ( $r=0.364$ ,

p=0.009; r=0.296, p=0.037 sırasıyla) ve hücre başına düşen anormallik frekanslarının (Urr, r=0.361, p=0.010; Ktv, r=0.301, p=0.034, sırasıyla) arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir. Ancak böyle bir ilişkiye Mİ değerleri bakımından rastlanmamıştır. Analizlerde yaş ve mitotik indeks arasında negatif yönde ilişki olduğu, fakat bu ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir (r=-0,410, p=0,775) (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda kromozomal anormallik (KA) ve mitotik indeks (Mİ) değerlerinin korelasyon analizleri

Korelasyonlar	KA/Hücre		Anormal Hücre (%)		Mitotik İndeks	
	R	P	R	P	R	P
Diyaliz süresi	0,037	0,797	0,044	0,756	0,063	0,659
Yaş	-0,163	0,248	-0,133	0,348	-0,410	0,775
Ferritin	0,128	0,365	0,122	0,391	-0,258	0,064
Urr	<b>0,361*</b>	<b>0,010</b>	<b>0,364**</b>	<b>0,009</b>	-0,680	0,637
Kt/V	<b>0,301*</b>	<b>0,034</b>	<b>0,296*</b>	<b>0,037</b>	-0,101	0,993

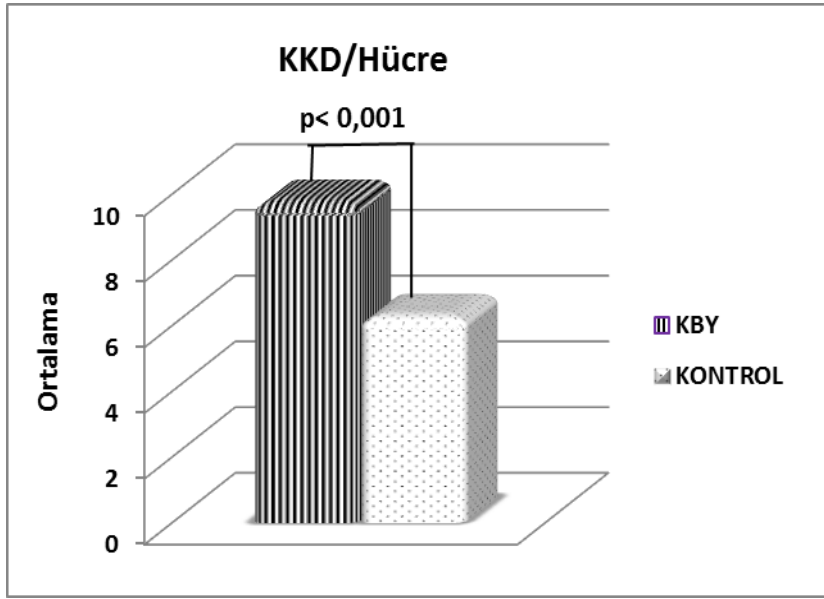
Urr: Üre azalma oranı; Kt/V: Diyaliz etkinliğini ölçen indeks. \*p<0,05' e göre, \*\*p<0,01' e göre

#### 4.4. Kardeş Kromatid Değişimi (KKD) Testi Sonuçları

Kardeş kromatid değişimi (KKD); 12 diyabetik ve 22 diyabetik olmayan olmak üzere toplam 34 hemodiyalize (HD) giren kronik böbrek yetmezlikli (KBY) hastada ve 25 sağlıklı bireyde (kontrol grubu) değerlendirilmiştir (Çizelge 4.6).

Yapılan kardeş kromatid değişimi testine göre; hastalarda KKD frekansında kontrole göre istatistiksel olarak önemli düzeyde artış belirlenmiştir (p<0,001) (Şekil 4.5). Diyabetli KBY'li hastaların, KKD frekanslarının diyabetik olmayan KBY'li hastalara göre arttığı, fakat bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca, hipertansiyonlu ve hipertansiyonu olmayan KBY'li hastalar arasında da KKD frekansı bakımından önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir. KBY'li hastalar hemodiyaliz tedavi sürelerine göre de karşılaştırılmıştır. Buna göre; hemodiyaliz tedavi süresi 5 yılın altında olan KBY'li hastalar ile 5 yılın üzerinde

olan KBY'li hastalar arasında KKD frekansı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Yaşı 50'den küçük olan KBY hastalarının KKD frekansı, yaşı 50'den büyük olan hastalara göre önemli düzeyde artmıştır (Şekil 4.6). Fakat cinsiyet, vücut kitle indeksi, hemoglobin ve parathormon değerlerine göre yapılan kıyaslamalarda; KKD frekansının istatistiksel olarak etkilenmediği tespit edilmiştir (Çizelge 4.6; Resim 4.2).

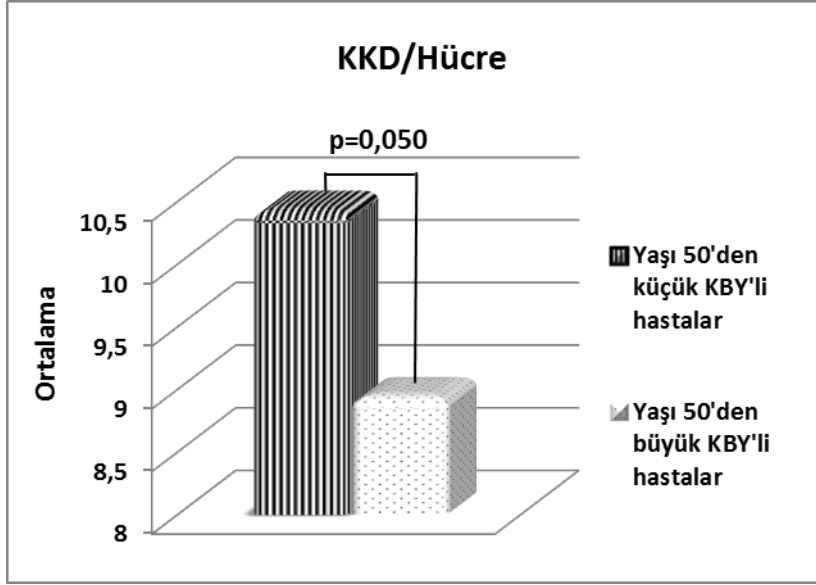


Şekil 4.5. KBY'li hastaların ve kontrol grubunun kardeş kromatid değişimi (KKD) değerlerinin dağılımı

Çizelge 4.6. Kardeş kromatid değişimi (KKD) testi sonuçları

	KKD±SD	P <sup>†</sup>
<b>KBY</b> n=34	<b>9,75± 1,77</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>KG</b> n=25	<b>6,27 ± 1,21</b>	
<b>DM (+)</b> n=12	9,25 ± 1,98	0,261
<b>DM (-)</b> n=22	10,03 ± 1,63	
<b>HT (+)</b> n=7	9,81 ± 1,37	0,924
<b>HT (-)</b> n=27	9,73 ± 1,88	
<b>YIL ≤5</b> n=20	9,52 ± 1,71	0,354
<b>YIL&gt;5</b> n=14	9,76 ± 1,52	
<b>YAŞ ≤50</b> n=15	<b>10,43 ± 1,80</b>	<b>0,050</b>
<b>YAŞ &gt;50</b> n=19	<b>8,94 ± 1,09</b>	
<b>KADIN</b> n=12	9,90±2,10	0,845
<b>ERKEK</b> n=22	9,60±1,57	
<b>VKİ≤25</b> n=24	1,94±0,15	0,211
<b>VKİ&gt;25</b> n=9	1,85±0,25	
<b>HB≤12</b> n=25	9,41±1,60	0,102
<b>HB&gt;12</b> n=9	10,7±1,97	
<b>PTH≤300</b> n=20	9,5 (7-14) <i>a</i>	0,359
<b>PTH&gt;300</b> n=14	9,72 (7-13) <i>a</i>	
<b>FER≤500</b> n=25	9,76 ± 1,69	0,939
<b>FER&gt;500</b> n=9	9,74 ± 2,09	

*a*=Medyan (Minumun-Maksimum); *SD*= Standart sapma; *KBY*: Kronik böbrek yetmezlikli hasta; *KG*: Kontrol Grubu; *DM (+)*: Diyabeti olan *KBY* hastası, *DM (-)*: Diyabeti olmayan *KBY* hastası; *HT (+)*: Hipertansiyonu olan *KBY* hastası; *HT(-)*: Hipertansiyonu olmayan *KBY* hastası; *VKİ*: Vücut kitle indeksi; *HB*: Hemogloblin; *PTH*: Parathormon, *FER*: Ferritin.



Şekil 4.6. KBY'li hastaların yaşlarına göre kardeş kromatid değişimi (KKD) değerlerinin dağılımı

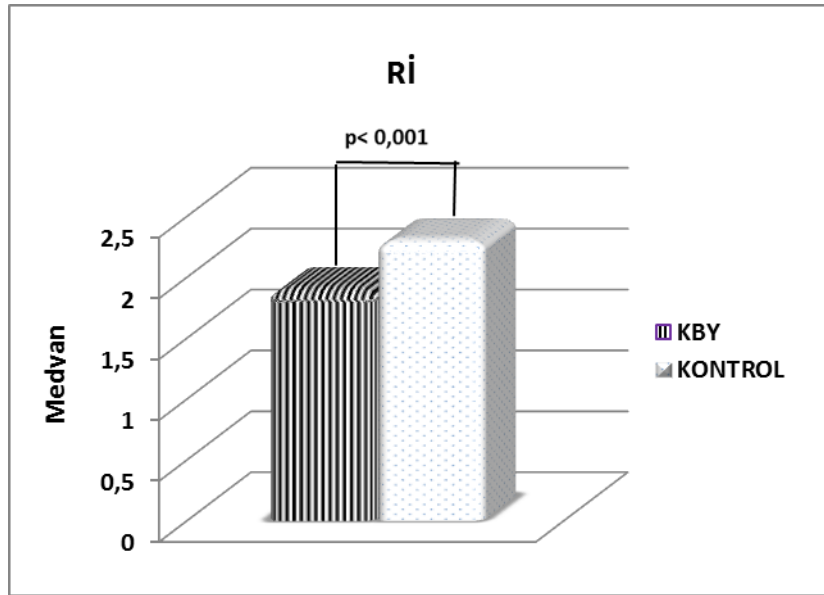


Resim 4.2. Kronik böbrek yetmezlikli hastaların lenfositlerinde gözlenen kardeş kromatid değişimleri

#### 4.5. Replikasyon İndeksi (Rİ) Sonuçları

Replikasyon indeksi (Rİ); 12 diyabetik ve 22 diyabetik olmayan olmak üzere toplam 34 hemodiyalize (HD) giren kronik böbrek yetmezlikli (KBY) hastada ve 25 sağlıklı bireyde (kontrol grubu) değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.7’de replikasyon indeksi sonuçları özetlenmiştir. KBY’li hastaların Rİ düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı oranda azaldığı belirlenmiştir ( $p<0,001$ ) (Şekil 4.7). Diyabetik olmayan KBY’li hastalarda, diyabetik KBY’li hastalara göre Rİ’inde önemli düzeyde düşüş tespit edilmiştir ( $p<0,001$ ) (Şekil 4.8). Fakat hipertansiyonlu ve hipertansiyonu olmayan KBY’li hastalar arasında Rİ değerleri bakımından anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Hastaların hemodiyaliz tedavi süresinin de Rİ’ni etkilemediği belirlenmiştir. Bununla birlikte; yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi, hemoglobin ve parathormon değerlerine göre yapılan kıyaslamalarda da Rİ’inde istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (Çizelge 4.7).



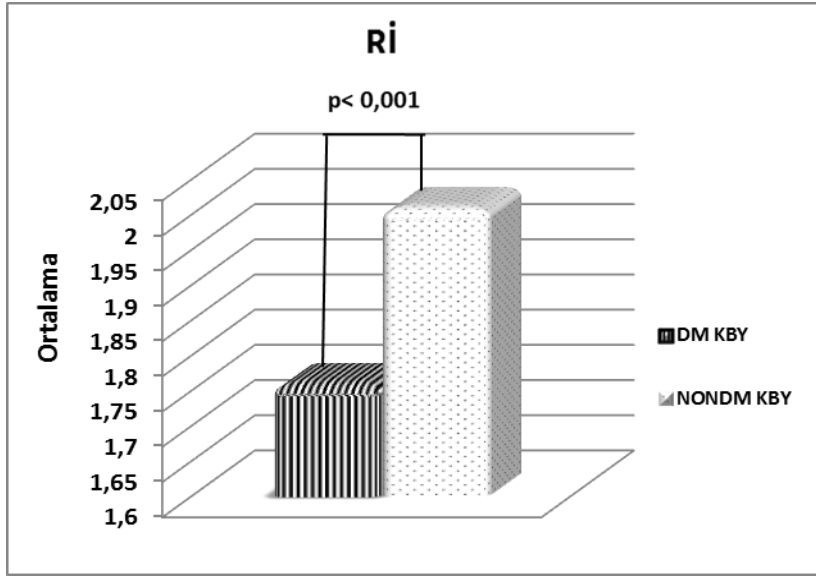
Şekil 4.7. KBY’li hastaların ve kontrol grubunun replikasyon indeksi (Rİ) değerlerinin dağılımı



Çizelge 4.7. Replikasyon indeksi (Rİ) sonuçları

	M1	M2	M3	Rİ±SD	P <sup>+</sup>
<b>KBY</b> n=34	39,26	32,33	28,41	<b>1,9 (1,5-2,3) a</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>KG</b> n=25	24,00	26,00	50,00	<b>2,3 (2-2,5) a</b>	
<b>DM (+)</b> n=12	44,21	33,87	21,92	<b>1,76±0,13</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>DM (-)</b> n=22	34,31	30,79	34,90	<b>2,01±0,16</b>	
<b>HT (+)</b> n=7	33,33	27,66	39,01	2,05±0,20	0,033
<b>HT (-)</b> n=27	39,24	32,76	28	1,88±0,17	
<b>YIL ≤5</b> n=20	40,55	31,4	28,05	1,87±0,18	0,141
<b>YIL &gt;5</b> n=14	34,28	32,65	33,07	2,00±0,18	
<b>YAŞ ≤50</b> n=15	35,93	29,74	34,33	1,98±0,17	0,094
<b>YAŞ &gt;50</b> n=19	39,57	33,65	26,78	1,87±0,21	
<b>KADIN</b> n=12	40,5	32,34	27,16	1,87±0,20	0,228
<b>ERKEK</b> n=22	36,59	31,69	31,72	1,95±0,18	
<b>VKİ ≤25</b> n=24	37	31,4	31,6	1,94±0,15	0,240
<b>VKİ &gt;25</b> n=9	40,66	33,34	26	1,85±0,27	
<b>HB ≤12</b> n=25	39,44	30,12	30,44	1,91±0,20	0,668
<b>HB &gt;12</b> n=9	33,88	36,9	29,22	1,95±0,17	
<b>PTH ≤300</b> n=20	38,7	34,3	27	1,88±0,15	0,201
<b>PTH &gt;300</b> n=14	36,92	28,51	34,57	1,98±0,23	
<b>FER ≤500</b> n=25	38,24	31,16	30,6	1,92±0,20	0,917
<b>FER &gt;500</b> n=9	37,22	34,01	28,77	1,91±0,17	

a=Medyan (Minumum-Maksimum); SD= Standart sapma; KBY: Kronik böbrek yetmezlikli hasta; KG: Kontrol Grubu; DM (+): Diyabeti olan KBY hastası, DM (-): Diyabeti olmayan KBY hastası; HT (+): Hipertansiyonu olan KBY hastası; HT (-): Hipertansiyonu olmayan KBY hastası; VKİ: Vücut kitle indeksi; HB: Hemoglobin; PTH: Parathormon, FER: Ferritin.



Şekil 4.8. Diyabetik ve diyabetik olmayan KBY'li hastaların replikasyon indeksi (Rİ) değerlerinin dağılımı

KBY'li hastalarda KKD ve Rİ frekansları ve hemodiyaliz süresi, yaş, ferritin, üre azalma oranı (Urr) ve diyaliz etkinliğini ölçen indeks (Kt/V) düzeylerine göre yapılan korelasyon analizleri sonuçları Çizelge 4.8'de verilmiştir. Buna göre; diyaliz süresi arttıkça KKD frekansının ve Rİ değerinin arttığı, fakat bu sonuçların istatistiksel olarak anlamsız olduğu belirlenmiştir. Hastaların yaşları arttıkça KKD frekansının ve Rİ değerinin azaldığı ve bu azalışın anlamlı olduğu tespit edilmiştir ( $r=-0.356$ ,  $p=0.039$ ;  $r=-0.379$ ,  $p=0.027$  sırasıyla). KKD ve Rİ ile ilgili yapılan diğer korelasyon analizleri istatistiksel olarak anlamsızdır (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda kardeş kromatid değişimi (KKD) ve replikasyon indeksi (Rİ) değerlerinin korelasyon analizleri

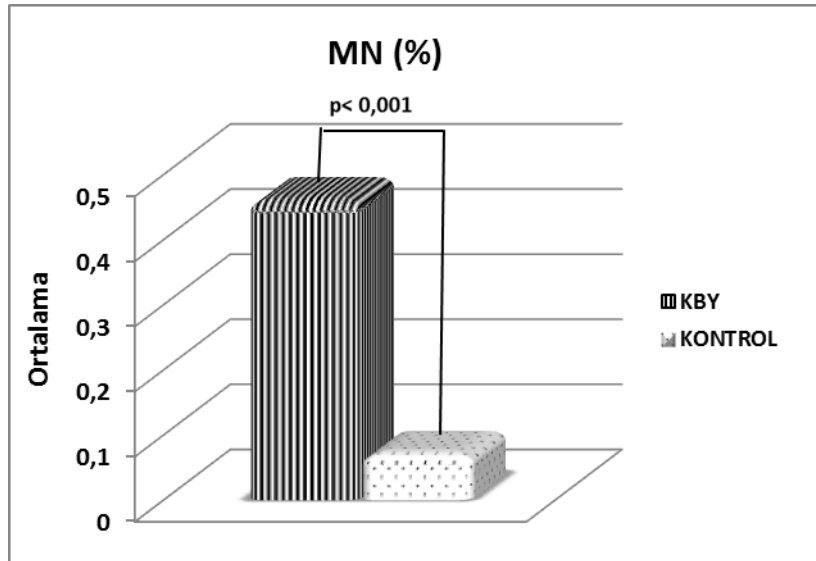
Korelasyonlar	KKD/hücre		Rİ	
	R	P	R	P
Diyaliz süresi	0,284	0,104	0,266	0,128
Yaş	<b>-0,356*</b>	<b>0,039</b>	<b>-0,379*</b>	<b>0,027</b>
Ferritin	-0,027	0,881	0,120	0,500
Urr	-0,025	0,890	-0,089	0,628
Kt/V	-0,002	0,989	-0,067	0,715

Urr: Üre azalma oranı; Kt/V: Diyaliz etkinliğini ölçen indeks. \* $p < 0,05$ ' e göre

#### 4.6. Mikronükleus (MN) Testi Sonuçları

Mikronükleus (MN) testi için; 26 diyabetik ve 32 diyabetik olmayan olmak üzere 58 hemodiyaliz (HD) tedavisi gören kronik böbrek yetmezlikli (KBY) hasta ve 24 sağlıklı birey (kontrol grubu) değerlendirilmiştir.

Mikronükleus testinin sonuçlarına göre; KBY hastalarında MN frekansı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda artmıştır ( $p < 0,001$ ). Bununla birlikte; diyabetik ve diyabetik olmayan KBY'li hastalar arasında ve hipertansiyonu olan ve olmayan KBY'li hastalar arasında MN frekansında anlamlı fark tespit edilmemiştir. Hemodiyaliz tedavi süresinin de MN frekansını istatistiksel olarak etkilemediği belirlenmiştir. Ayrıca yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi, hemoglobin ve parathormon değerlerinin de, MN frekansı üzerinde anlamlı etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.9; Şekil 4.9; Resim 4.3).

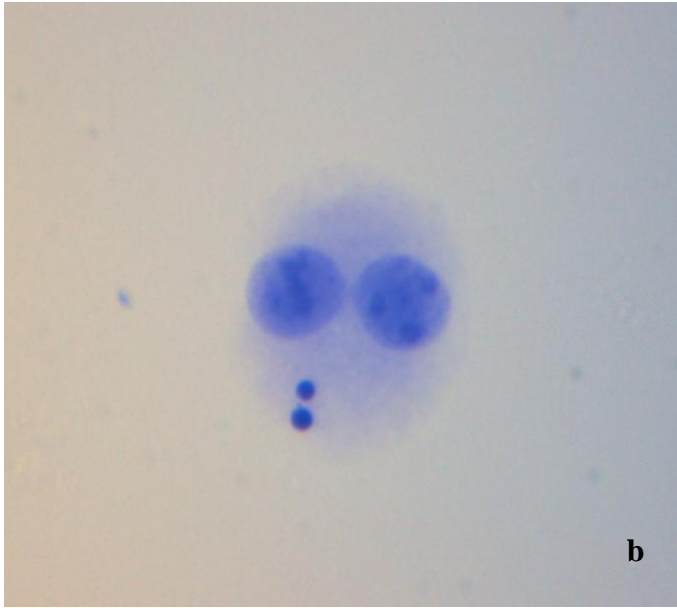
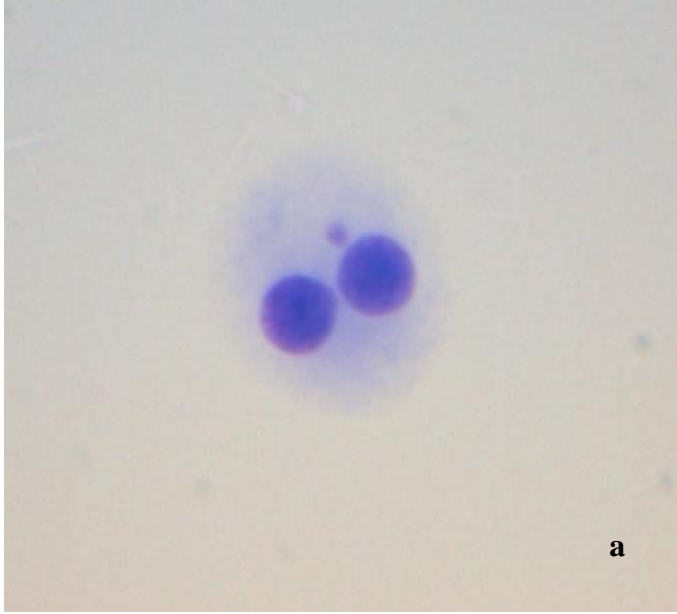


Şekil 4.9. KBY'li hastaların ve kontrol grubunun mikronükleus (MN) değerlerinin dağılımı

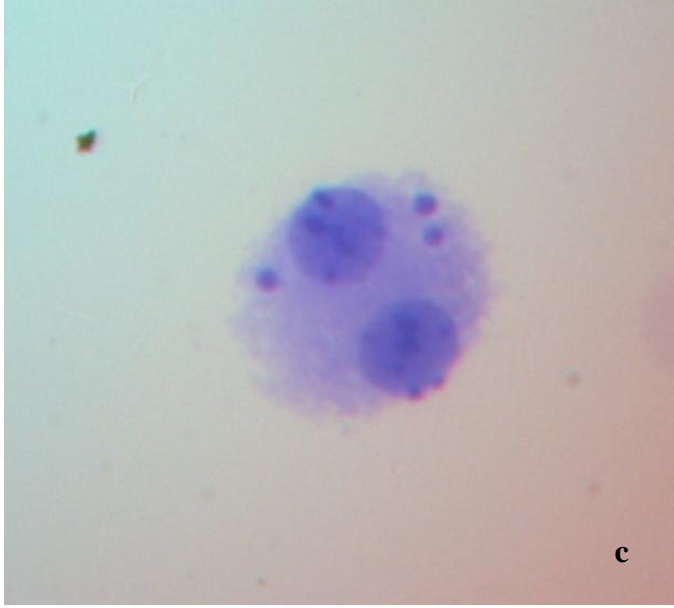
Çizelge 4.9. Mikronükleus (MN) testi sonuçları

	BN'lerdeki mikronükleus sayısı				MN (%) Med (Min-Maks)	P <sup>†</sup>
	1	2	3	4		
<b>KBY</b> n=58	226	14	4	-	<b>0,46 ± 0,34 a</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>KG</b> n=24	21	1	-	-	<b>0,07 ± 0,145 a</b>	
<b>DM (+)</b> n=26	95	4	3	-	0,40 (0 – 1)	0,981
<b>DM (-)</b> n=32	131	10	1	-	0,40 (0 – 1)	
<b>HT (+)</b> n=8	20	1	1	-	0,25 (0-1)	0,989
<b>HT (-)</b> n=50	206	13	3	-	0,40 (0-1)	
<b>YIL&lt;5</b> n=36	137	11	2	-	0,50±0,38 a	0,891
<b>YIL ≥5</b> n=22	89	3	2	-	0,44±0,41 a	
<b>YAŞ ≤50</b> n=19	67	4	2	-	0,44±0,39 a	0,626
<b>YAŞ &gt;50</b> n=39	159	10	2	-	0,50±0,41 a	
<b>KADIN</b> n=16	63	2	-	-	0,35 (0-1)	0,400
<b>ERKEK</b> n=42	163	12	4	-	0,45 (0-1)	
<b>VKİ&gt;25</b> n=38	149	13	4	-	0,40 (0-1)	0,692
<b>VKİ≥25</b> n=20	77	1	-	-	0,45 (0-1)	
<b>HB≤12</b> n=42	158	12	4	-	0,40 (0-1)	0,944
<b>HB&gt;12</b> n=16	68	2	-	-	0,45 (0-1)	
<b>PTH≤300</b> n=36	135	11	2	-	0,40 (0-1)	0,891
<b>PTH&gt;300</b> n=22	91	3	2	-	0,40 (0-1)	
<b>FER≤500</b> n=38	138	12	3	-	0,40 (0-1)	0,967
<b>FER&gt;500</b> n=20	88	2	1	-	0,35 (0-1)	

a=Mean±Standart sapma; Med (Min-Maks): Medyan (Minimum-Maksimum); MN: Mikronükleus; BN: Binükleat hücre; KBY: Kronik böbrek yetmezlikli hasta; KG: Kontrol Grubu; DM (+): Diyabeti olan KBY hastası, DM (-): Diyabeti olmayan KBY hastası; HT (+): Hipertansiyonu olan KBY hastası; HT (-): Hipertansiyonu olmayan KBY hastası; VKİ: Vücut kitle indeksi; HB: Hemoglobin; PTH: Parathormon, FER: Ferritin.



Resim 4.3. Kronik böbrek yetmezlikli hastaların lenfositlerinde gözlenen üç mikronükleuslu binükleat hücreler a) bir mikronükleus, b) iki mikronükleus



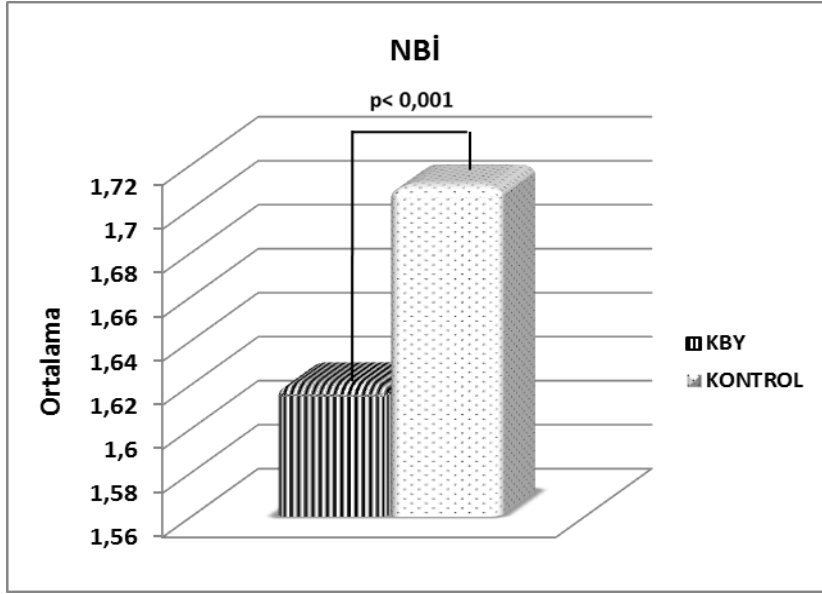
Resim 4.3. (Devamı) Kronik böbrek yetmezlikli hastaların lenfositlerinde gözlenen üç mikronükleuslu binükleat hücreler c) üç mikronükleus

#### 4.7. Nükleer Bölünme İndeksi (NBİ) Sonuçları

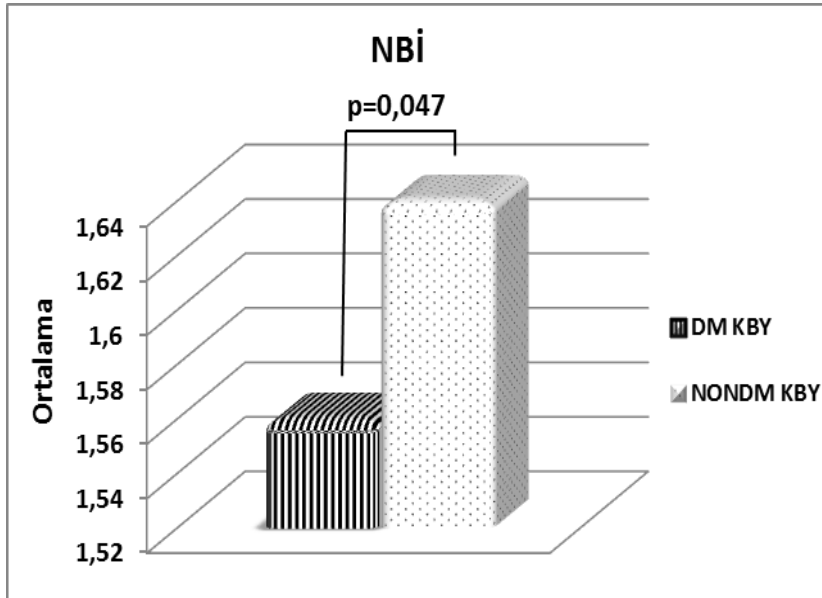
Nükleer bölünme indeksi (NBİ); 26 diyabetik ve 32 diyabetik olmayan olmak üzere 58 hemodiyaliz (HD) tedavisi uygulanan kronik böbrek yetmezlikli (KBY) hastada ve 24 sağlıklı bireyde (kontrol grubu) değerlendirilmiştir.

Yapılan nükleer bölünme indeksi analizlerinin sonuçları Çizelge 4.10'da verilmiştir. Buna göre; KBY'li hastalarda nükleer bölünme indeksi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda azalmıştır ( $p < 0.001$ ) (Şekil 4.10). Bununla birlikte, diyabeti olan KBY'li hastaların nükleer bölünme indeksi diyabetik olmayan KBY'li hastalara göre istatistiksel olarak önemli düzeyde düşüş göstermiştir ( $p = 0.047$ ) (Şekil 4.11). Fakat hipertansiyonun nükleer bölünme indeksini etkilemediği belirlenmiştir. Çalışmamızda hemodiyaliz tedavi süresi 5 yılın altında olan KBY'li hastalar ile 5 yılın üzerinde olan KBY'li hastalar arasında NBİ frekansları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Yaşı 50'nin üstünde olan KBY'li hastalarda; yaşı 50'nin altında olan KBY'li hastalara göre nükleer bölünme indeksi önemli oranda azalmıştır ( $p = 0.003$ ) (Şekil 4.12). Ayrıca, cinsiyet, vücut kitle indeksi (VKİ),

hemoglobin ve parathormon değerlerine göre yapılan kıyaslamalarda NBİ'inin etkilendiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.10).



Şekil 4.10. KBY'li hastaların ve kontrol grubunun nükleer bölünme indeksi (NBİ) değerlerinin dağılımı



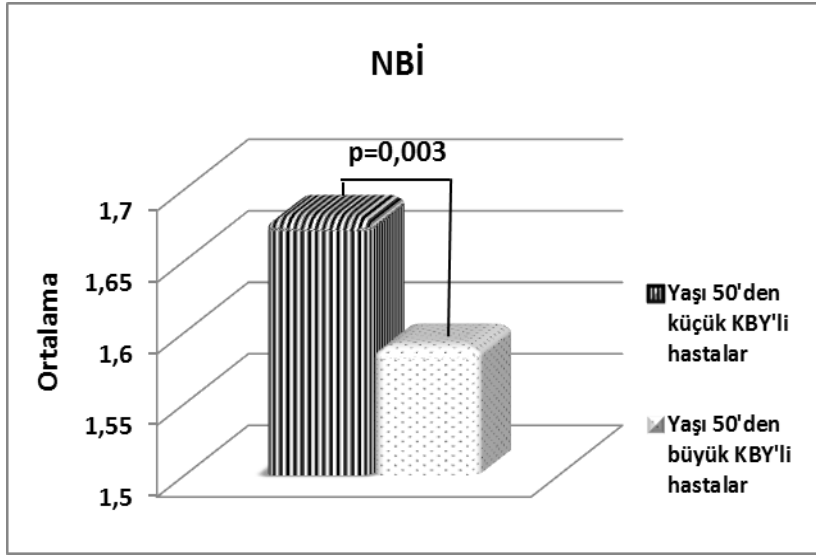
Şekil 4.11. Diyabetik ve diyabetik olmayan KBY'li hastaların nükleer bölünme indeksi (NBİ) değerlerinin dağılımı

Çizelge 4.10. Nükleer bölünme indeksi (NBI) sonuçları

	N1	N2	N3	NBI±SD	P*
<b>KBY</b> n=58	15148	10218	3634	<b>1,62±0,12</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>KG</b> n=24	5963	5404	2133	<b>1,71±0,09</b>	
<b>DM (+)</b> n=26	7217	4311	1472	<b>1,56±0,11</b>	<b>0,047</b>
<b>DM (-)</b> n=32	7931	5907	2162	<b>1,64±0,11</b>	
<b>HT (+)</b> n=8	2017	1493	490	1,63±0,11	0,951
<b>HT (-)</b> n=50	13131	8725	3144	1,61±0,12	
<b>YIL&lt;5</b> n=36	9501	6673	1826	1,64±0,12	0,374
<b>YIL ≥5</b> n=22	5647	3545	1808	1,61±0,11	
<b>YAŞ ≤50</b> n=19	4589	3518	1393	<b>1,68±0,11</b>	<b>0,003</b>
<b>YAŞ &gt;50</b> n=39	10559	6700	2241	<b>1,59±0,11</b>	
<b>KADIN</b> n=16	4333	2715	952	1,59±0,09	0,431
<b>ERKEK</b> n=42	10815	7503	2682	1,62±0,13	
<b>VKİ≤25</b> n=37	9617	6916	2467	<b>1,63±0,11</b>	<b>0,048</b>
<b>VKİ&gt;25</b> n=20	5531	3302	1167	<b>1,56±0,12</b>	
<b>HB≤12</b> n=42	11007	7449	2544	1,62±0,12	0,911
<b>HB&gt;12</b> n=16	4141	2769	1090	1,65±0,13	
<b>PTH≤300</b> n=36	9587	6290	2123	1,61±0,11	0,456
<b>PTH&gt;300</b> n=22	5561	3928	1511	1,64±0,13	
<b>FER≤500</b> n=38	9821	6707	2473	1,62±0,10	0,246
<b>FER&gt;500</b> n=20	5327	3511	1161	1,63±0,16	

a=Mean±Standart sapma; Med (Min-Maks): Medyan (Minimum-Maksimum); NBI: Nükleer bölünme indeksi; SD= Standart sapma; N1: 1 nukleuslu hücre sayısı; N2: 2 nukleuslu hücre sayısı; N3: 3 nukleuslu hücre sayısı; N4: 4 nukleuslu hücre sayısı; KBY: Kronik böbrek yetmezlikli hasta; KG: Kontrol Grubu; DM (+): Diyabeti olan KBY hastası, DM (-): Diyabeti olmayan KBY hastası; HT (+): Hipertansiyonu olan KBY hastası; HT (-): Hipertansiyonu olmayan KBY hastası; VKİ: Vücut kitle indeksi; HB: Hemoglobin; PTH: Parathormon, FER: Ferritin.





Şekil 4.12. KBY'li hastaların yaşlarına göre nükleer bölünme indeksi (NBİ) değerlerinin dağılımı

MN ve NBİ değerlerinin korelasyon analizi sonuçları Çizelge 4.11'de verilmiştir. Buna göre; diyaliz süresi arttıkça MN frekansının arttığı, NBİ oranının azaldığı fakat bu sonuçların istatistiksel olarak anlamsız olduğu belirlenmiştir. Diyaliz etkinliğini ölçen indeks (Kt/V) arttıkça MN frekansının azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ( $r=-0.284$ ,  $p=0.034$ ). Fakat ferritin, yaş ve Urr değerleri ile MN ve NBİ değerleri arasında bir ilişki olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda mikronükleus (MN) ve nükleer bölünme indeksi (NBİ) değerlerinin korelasyon analizleri

Korelasyonlar	Mikronükleus		Nükleer bölünme indeksi	
	R	P	R	P
Diyaliz süresi	0,033	0,808	-0,065	0,629
Yaş	-0,011	0,936	-0,313	0,017
Ferritin	-0,046	0,734	-0,096	0,472
Urr	-0,267	0,047	0,152	0,264
Kt/V	-0,284*	0,034	0,119	0,382

Urr: Üre azalma oranı; Kt/V: Diyaliz etkinliğini ölçen indeks. \* $p<0,05$ ' e göre

#### 4.8. Comet Testi Sonuçları

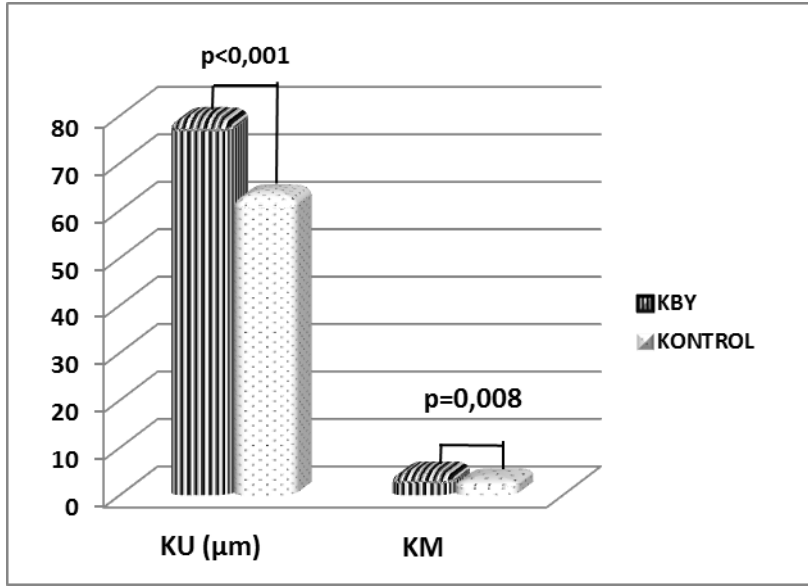
Diyabetik ve diyabetik olmayan kronik böbrek yetmezlikli hastalarda DNA seviyesinde hasar oluşup oluşmadığı comet testi ile değerlendirilmiştir. Comet analizinde 22 diyabetik, 31 diyabetik olmayan olmak üzere toplam 53 hemodiyaliz (HD) tedavisi gören kronik böbrek yetmezlikli (KBY) hasta ve 24 sağlıklı birey (kontrol grubu) değerlendirmeye alınmıştır.

Çalışmamızda comet analizi sonuçları Çizelge 4.12’de verilmiştir. Primer DNA hasarı kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti olmak üzere toplam üç parametreye göre değerlendirilmiştir. Buna göre; KBY’li hastalarda comet kuyruk uzunluğu ( $p < 0.001$ ) ve kuyruk momentinde ( $p = 0.029$ ) kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı oranda artış belirlenmiştir (Şekil 4.13). Diyabetik ve diyabetik olmayan KBY hastaları birbiri ile karşılaştırıldığında; diyabetik hastaların comet kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momentinde artış olduğu fakat bu artışın anlamlı olmadığı tespit edilmiştir. Hipertansiyonlu KBY’li hastalarla, hipertansiyonu olmayan KBY’li hastalar arasında; değerlendirilen her üç parametre bakımından da istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir. Çalışmamızda, vücut kitle indeksi (VKİ)  $25 \text{ kg/m}^2$ ’den büyük olan KBY’li hastalarda comet kuyruk yoğunluğu ( $p = 0,023$ ) ve kuyruk momenti ( $p = 0.046$ ); VKİ’i  $25 \text{ kg/m}^2$ ’den küçük KBY’li hastalara göre istatistiksel olarak önemli oranda artmıştır (Şekil 4.14). Ayrıca parathormon (PTH) değeri  $300 \text{ pg/ml}$ ’den büyük olan KBY’li hastaların comet kuyruk uzunluğunda, PTH’ı  $300 \text{ pg/ml}$ ’den küçük olan KBY’li hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenmiştir ( $P = 0,003$ ) (Şekil 4.15). Fakat tedavi süresine, yaşa, cinsiyete ve hemogloblin değerlerine göre yapılan kıyaslamalarda; bu parametrelerin primer DNA hasarı üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.12; Resim 4.4).

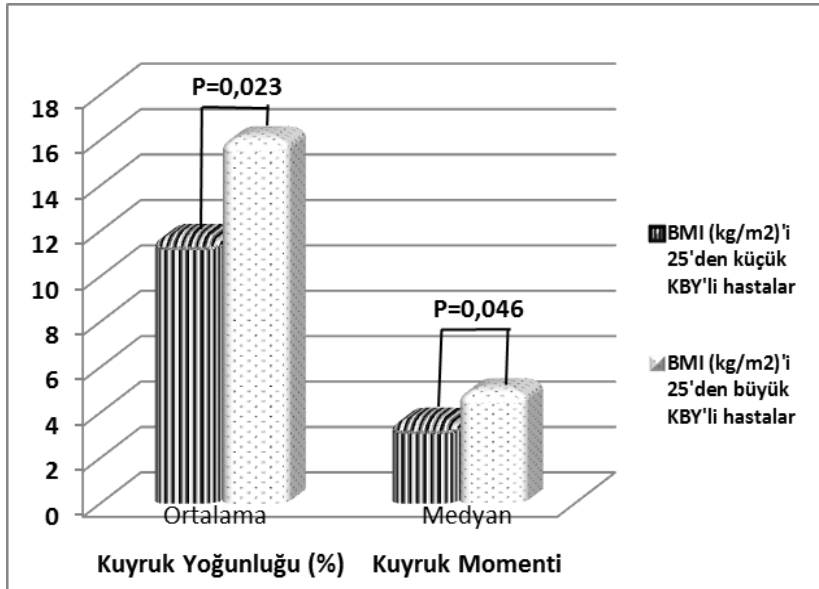
Çizelge 4.12. Comet testi sonuçları

	Kuyruk Uzunluğu ( $\mu\text{m}$ )		Kuyruk Yoğunluğu (%)		Kuyruk Momenti	
	KU $\pm$ SD	P	KY $\pm$ SD	P	KM $\pm$ SD	P
<b>KBY</b> n=53	<b>79,60<math>\pm</math>20,8</b>	<b>&lt; 0,001</b>	13,4 $\pm$ 5,46	0,202	<b>4,83<math>\pm</math>3,07</b>	<b>0,008</b>
<b>KG</b> n=24	<b>63,30<math>\pm</math>8,26</b>		11,6 $\pm$ 3,20		<b>3,10<math>\pm</math>1,50</b>	
<b>DM (+)</b> n=22	79,4 $\pm$ 16,8	0,613	14,5 (6-33) <i>a</i>	0,493	5,56 $\pm$ 3,90	0,613
<b>DM (-)</b> n=31	79,7 $\pm$ 23,5		12,1 (7-24) <i>a</i>		4,31 $\pm$ 2,20	
<b>HT (+)</b> n=9	79,2 $\pm$ 26,2	0,949	13,1 $\pm$ 3,82	0,827	3,43 (2-6) <i>a</i>	0,808
<b>HT (-)</b> n=44	79,7 $\pm$ 19,7		13,5 $\pm$ 5,81		4,23 (2-16) <i>a</i>	
<b>YIL<math>\leq</math>5</b> n=34	77,60 $\pm$ 20,66	0,565	13,99 $\pm$ 6,43	0,985	5,30 $\pm$ 3,61	0,781
<b>YIL<math>&gt;</math>5</b> n=19	81,59 $\pm$ 28,40		13,54 $\pm$ 3,96		4,66 $\pm$ 2,70	
<b>YAŞ <math>\leq</math>50</b> n=20	83,52 $\pm$ 31,42	0,322	12,73 $\pm$ 4,93	0,152	4,78 $\pm$ 3,01	0,304
<b>YAŞ <math>&gt;</math>50</b> n=33	75,54 $\pm$ 14,48		14,71 $\pm$ 5,96		5,27 $\pm$ 3,51	
<b>KADIN</b> n=17	82,3 $\pm$ 18,8	0,350	13,1 $\pm$ 4,50	0,954	4 (2-10) <i>a</i>	0,717
<b>ERKEK</b> n=36	78,3 $\pm$ 21,8		13,6 $\pm$ 5,90		3,9 (2-16) <i>a</i>	
<b>VKİ<math>\leq</math>25</b> n=32	77,2 $\pm$ 18,9	0,337	<b>11,8<math>\pm</math>3,50</b>	<b>0,023</b>	<b>3,7 (2-10) <i>a</i></b>	<b>0,046</b>
<b>VKİ<math>&gt;</math>25</b> n=20	84 $\pm$ 23,7		<b>16,1<math>\pm</math>7,0</b>		<b>5 (2-16) <i>a</i></b>	
<b>HB<math>\leq</math>12</b> n=40	79,8 $\pm$ 20,4	0,951	13,7 $\pm$ 5,80	0,710	5,01 (2-16) <i>a</i>	0,756
<b>HB<math>&gt;</math>12</b> n=13	79,1 $\pm$ 22,8		12,7 $\pm$ 4,03		11,4 (9-22) <i>a</i>	
<b>PTH<math>\leq</math>300</b> n=33	<b>72,7<math>\pm</math>13,4</b>	<b>0,003</b>	13,0 $\pm$ 4,80	0,557	4,4 (2-13) <i>a</i>	0,219
<b>PTH<math>&gt;</math>300</b> n=20	<b>91,03<math>\pm</math>25,7</b>		14,2 $\pm$ 6,40		4,38 (2-16)	
<b>FER<math>\leq</math>500</b> n=36	82,7 $\pm$ 22,5	0,142	13,8 $\pm$ 5,20	0,202	4,26 (2-13)	0,223
<b>FE<math>&gt;</math>500</b> n=17	73,1 $\pm$ 15,2		12,6 $\pm$ 6,04		3,55 (2-16)	

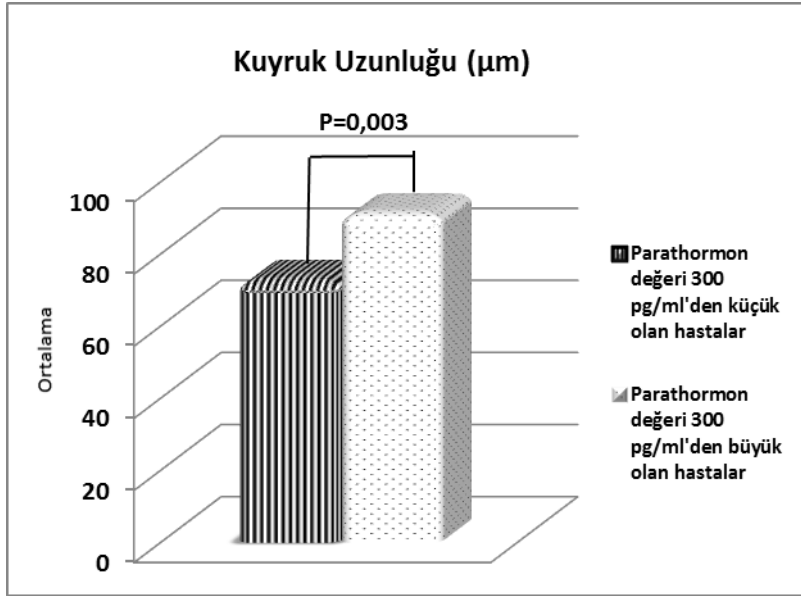
*a*= Medyan (Minimum-Maksimum); KY: Comet kuyruk yoğunluğu; KU: Comet kuyruk uzunluğu; KM: Kuyruk momenti; SD=Standart sapma; KBY: Kronik böbrek yetmezlikli hasta; KG: Kontrol Grubu; DM (+): Diyabeti olan KBY hastası, DM (-): Diyabeti olmayan KBY hastası; HT (+): Hipertansiyonu olan KBY hastası; HT (-): Hipertansiyonu olmayan KBY hastası; VKİ: Vücut kitle indeksi; HB: Hemoglobin; PTH: Parathormon, FER: Ferritin.



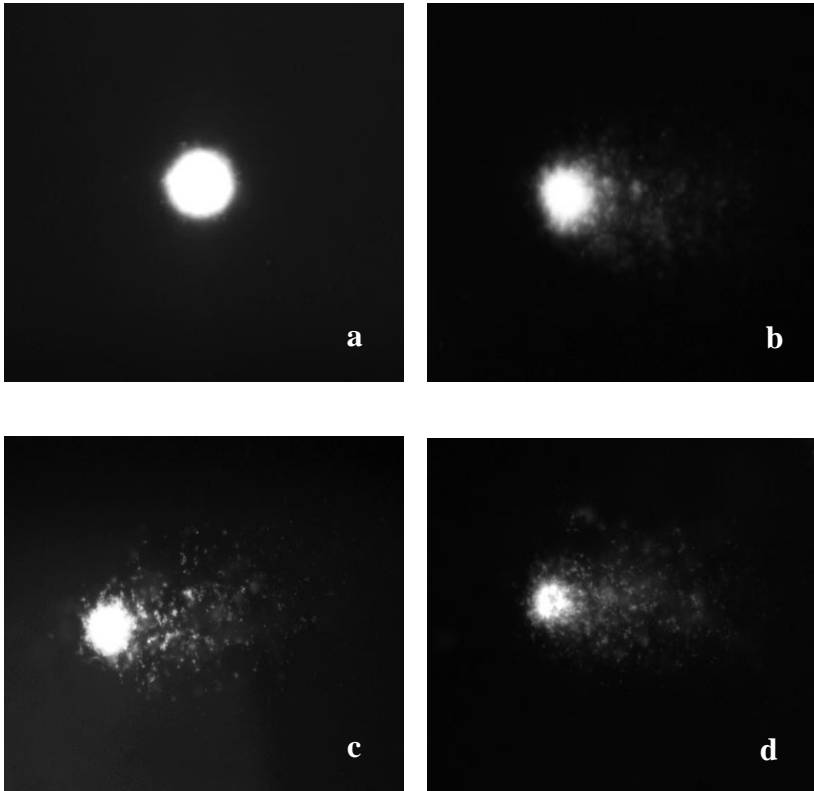
Şekil 4.13. KBY'li hastaların ve kontrol grubunun comet kuyruk uzunluğu (KU) ve kuyruk momenti (KM) değerlerinin dağılımı



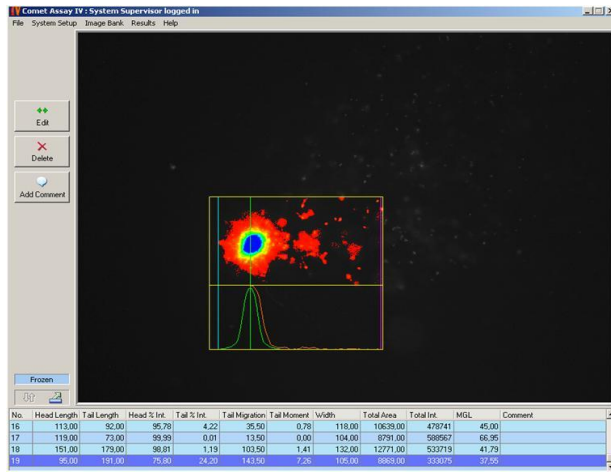
Şekil 4.14. KBY'li hastaların vücut kitle indeksi (VKİ)'lerine göre comet kuyruk yoğunluğu (KY) ve kuyruk momenti (KM) değerlerinin dağılımı



Şekil 4.15. KBY'li hastaların parathormon (PTH) değerine göre comet kuyruk uzunluğu (KU) değerinin dağılımı



Resim 4.4. KBY'li hastaların lenfositlerinde oluşan DNA hasarının comet testi ile görünümü a) hasarsız DNA, b) az hasarlı DNA, c) orta hasarlı DNA, d) çok hasarlı DNA



Resim 4.5. KBY'li hastalardaki hasarlı hücrenin Comet Assay IV ölçüm programında görünümü

KBY'li hastalarda primer DNA hasarı ile hemodiyaliz süresi, yaş, ferritin, Urr ve Kt/V düzeylerine göre yapılan korelasyon analizleri sonuçları Çizelge 4.13'de verilmiştir. Buna göre, ferritin miktarı arttıkça kuyruk uzunluğu ( $r=-0.310$ ,  $p=0.024$ ) azalmış ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, parathormon değeri ile kuyruk uzunluğu arasında anlamlı, pozitif ancak zayıf bir korelasyon olduğu belirlenmiştir ( $r=0.437$ ,  $p=0.001$ ). Diyaliz süresi, yaş, Urr ve Kt/V değerleriyle primer DNA hasarı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. KBY'li hastalarda DNA hasarı değerlerinin korelasyon analizleri

Korelasyonlar	Kuyruk uzunluğu ( $\mu\text{m}$ )		Kuyruk yoğunluğu (%)		Kuyruk momentleri	
	R	P	R	P	R	P
Diyaliz süresi	-0,093	0,506	-0,069	0,622	-0,129	0,358
Yaş	0,225	0,105	0,053	0,706	0,000	1,000
Ferritin	<b>-0,310*</b>	<b>0,024</b>	-0,070	0,619	-0,075	0,594
Urr	-0,092	0,521	-0,228	0,108	-0,198	0,163
Kt/V	-0,061	0,673	-0,177	0,213	-0,136	0,342
Parathormon	<b>0,437**</b>	<b>0,001</b>	0,048	0,733	0,083	0,553

Urr: Üre azalma oranı; Kt/V: Diyaliz etkinliğini ölçen indeks. \* $p<0,05$ ' e göre , \*\* $p<0,01$ ' e göre

Çizelge 4.14’de uygulanan tüm genotoksisite testlerinin sonuçları özetlenmiştir.

Çizelge 4.14. Genotoksisite test sonuçlarının özet karşılaştırması

	KA	Mİ	KKD	Rİ	MN	NBİ	DNA Hasarı		
							KU	KY	KM
<b>KBY</b>	↑ K’e göre	↓ K’e göre	↑ K’e göre	↓ K’e göre	↑ K’e göre	↓ K’e göre	↑ K’e göre	AD	↑ K’e göre
<b>DM (+)</b>	AD	AD	AD	↓ DM(-)’ e göre	AD	↓ DM (-) ’e göre	AD	AD	AD
<b>HT(+)/ HT(-)</b>	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD
<b>YIL≤5/ YIL&gt;5</b>	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD
<b>YAŞ≤50/ YAŞ&gt;50</b>	AD	AD	↑ YAŞ>50’ e göre	AD	AD	↓ YAŞ≤50’ e göre	AD	AD	AD
<b>KADIN/ ERKEK</b>	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD
<b>VKİ&gt;25</b>	AD	AD	AD	AD	AD	↓ VKİ≤25’ e göre	AD	↑ VKİ≤25’ e göre	↑ VKİ≤25’ e göre
<b>HB≤12/ HB&gt;12</b>	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD
<b>PTH&gt;300</b>	AD	AD	AD	AD	AD	AD	↑ PTH≤300’ e göre	AD	AD
<b>FER&gt;500</b>	AD	↓ FER≤500’ e göre	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD

AD: Anlamli değil, ↑:  $p < 0.05$  düzeyinde anlamli artış, ↓:  $p < 0.05$  düzeyinde anlamli azalma  
 KBY: Kronik böbrek yetmezlikli hasta; K: Kontrol Grubu; DM (+): Diyabeti olan KBY hastası, DM (-): Diyabeti olmayan KBY hastası; VKİ: Vücut kitle indeksi; HB: Hemogloblin, PTH: Parathormon, FER: Ferritin.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kronik böbrek yetmezliği (KBY) dünyada sıklığı giderek artan yaygın bir hastalıktır [James ve ark., 2010]. Kronik böbrek yetmezliği giderek azalan glomerüler filtrasyon hızı (GFH) ile yansıtıldığı gibi, nefron kaybına bağlı olarak böbrek fonksiyonlarının yıllar içerisinde ilerleyici ve geri dönüşümsüz olarak kaybedilmesidir [Akpolat ve Utaş, 2001]. Gelişmiş ülkelerde, diyabet, hipertansiyon, yaş, artmış vücut kitle indeksi, sigara [Haroun ve ark., 2003; Fox ve ark., 2004; Wang ve ark., 2008a] ve kardiovasküler hastalık öyküsü [Bang ve ark., 2007] kronik böbrek yetmezliği ile ilişkilidir. Ayrıca, bulaşıcı hastalıklar da kronik böbrek yetmezliğinin gelişmesinde bir etkindir [Barsoum, 2006].

Kronik böbrek yetmezlikli hastalara uygulanan hemodiyaliz tedavisi ile her ne kadar vücuttan atıklar uzaklaştırılmaya çalışılsa da son yıllarda yapılan çalışmalar bu tedavinin genotoksik etkilerinin olabileceğini göstermektedir [Roth ve ark., 2008; Aykanat ve ark., 2011; Demircigil ve ark., 2011; Rangel-López ve ark., 2013]. Bizim çalışmamızda KBY'li hastalardaki genetik hasar dört farklı parametre ile değerlendirilmiştir. Ayrıca diyabetik KBY'li hastaların da risk grubunda olup olmadıklarının belirlenmesi önemlidir. Bu nedenle çalışmamızda, hemodiyalize (HD) giren diyabetik ve diyabetik olmayan kronik böbrek yetmezlikli (KBY) hastalardan alınan kan örnekleri kültüre alınarak, lenfositlerde oluşan kromozomal anormallik (KA), kardeş kromatid değişimi (KKD) ve mikronukleus (MN) frekansları belirlenmiştir. Bununla birlikte lenfositler izole edilerek Comet yöntemi ile DNA hasarı tespit edilmiştir. Elde edilen verilerin, hemodiyaliz süresi, yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi, hemoglobin, parathormon ve ferritin gibi biyokimyasal değerlere göre ilişkisi de araştırılmıştır.

Kromozomal anormallik (KA) testi kültüre alınmış periferik kan lenfositlerinde sıkça kullanılan testlerden biridir. Kromozomal anormalliklerin oluşmasında hücre siklusunun G<sub>2</sub> fazı çok önemlidir. DNA hasarının büyük bir kısmı, hücre siklusunun G<sub>2</sub> fazında tamir edilir. Hücre döngüsünün S ve G<sub>2</sub> evresinde oluşan DNA çift zincir kırıkları homolog rekombinasyon ile hasar görmemiş kardeş kromatit kullanılarak



tamir edilir. Homolog rekombinasyon bu nedenle genomun devamlılığını sağlamak için şarttır. Kromozomal anormalliklerin artması tamir yapılmadığını, yanlış yapıldığını veya engellendiğini göstermektedir [Çelik, 2003; Moynahan ve Jasin, 2010]. Çalışmamızda KA analizinin sonuçlarına göre, hastalarda beş tip yapısal ve iki tip sayısal olmak üzere toplam yedi tip anormallik belirlenmiştir. KBY’li hastalarda gözlenen yapısal anormallikler; kromatid kırığı, kromozom kırığı, kardeş kromatidlerde birleşme, fragment ve disentrik kromozomdur. En sık rastlanan anormallik tipi kromatid kırığıdır. Kromatid kırıkları, DNA’da meydana gelen çift zincir kırıkları sonucunda oluşan ve tek bir kromatitte gözlenen kırıklardır [Natarajan, 2002]. Bu çalışmada ikinci yaygın görülen anormallik tipi ise kardeş kromatidlerde birleşmedir. Kromozom uçlarında meydana gelen terminal delesyonlarla, bu kırık uçların karşılıklı birleşmesi sonucunda kardeş kromatidlerde birleşme meydana gelir [Murli, 2003]. Fragment, kromozom ya da kromatitlerde meydana gelen kırılmalar ile genellikle terminal delesyonlar sonucunda oluşur [Anwar ve ark., 1994]. Disentrik kromozomlar, non-homolog kromozom kolları arasındaki füzyon ile veya homolog kromozomların iki kısa yada iki uzun kolu arasındaki füzyon ile meydana gelirler [Satoh ve ark., 2002]. Ayrıca, bu çalışmada sayısal anormallikler olan poliploidi ve endoreduplikasyona da rastlanmıştır. Poliploidi, haploid kromozom takımının ikiden fazla katlarda görülmesidir [Topaktaş ve Speit, 1990]. Endoreduplikasyon, kromatid ayrılması olmaksızın ardarda iki DNA replikasyonunun gerçekleşmesi sonucu meydana gelir. Endoreduplikasyonun oluşmasında; iğ ipliklerinin bozulması ve DNA’da meydana gelen hasarlar önemli rol oynamakla birlikte, mitoz bölünmede anafazda kromatid ayrılmasında önemli görev alan DNA topoizomerazlarda meydana gelebilecek bozukluklar da bu anormalliğin ortaya çıkmasında etkilidir [Cortes ve Pastor, 2003; Yılmaz, 2008].

Kromozomal anormallik testi sonucunda; KBY’li hastaların kromozomal anormallik frekanslarında kontrole göre önemli düzeyde artış belirlenmiştir. Fakat diyabetik KBY hastaları ile diyabetik olmayan KBY hastaları arasında; kromozomal anormallik frekansları bakımından anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Epidemiyolojik çalışmalara göre, kromozomal anormallik frekansları ile kanser oluşumu arasında pozitif bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir [Hagmar ve ark.,

1998; Çinkılıç ve ark., 2009; Doak ve ark., 2012]. Genetik materyalde oluşan kromozomal anormallikler tamir edilemediğinde ortaya çıkan yüksek KA frekansının kanser riskini artırdığı belirtilmiştir [Bolognesi, 2003]. Literatürde, hemodiyaliz tedavisi uygulanan kronik böbrek yetmezliği hastalarında genetik hasarın kromozomal anormallik testiyle belirlendiği az sayıda çalışma bulunmaktadır. Goh ve Cestero (1979); hemodiyaliz tedavisi uygulanan hastalarda kromozomal anormallik frekansının arttığını belirtmişlerdir. Cengiz ve arkadaşları (1988) insan lenfositlerinde yaptıkları çalışmada, üremili hastalarda (n=44), kontrole göre (n=24) yapısal kromozomal anormalliklerin arttığını belirlemişlerdir. Bu sitogenetik değişimin hastalarda kanser riskini artırmada rol oynayabileceğini belirtmişlerdir [Cengiz ve ark., 1988]. Öztaş ve arkadaşları (2001); üremili hastalarda, 23 metafaz plağında gap veya izogap yapıları (% 6.4), 15 metafaz plağında asentrik kromozom yapısı (% 4.2) ve 12 metafaz plağında da kromozom kırığı (% 3.4) tespit etmişlerdir. Hastalarda herhangi bir sayısal kromozomal anormalliğe rastlanmamıştır. Bizim bu çalışmada elde ettiğimiz veriler, Öztaş ve ark. (2001)'nin sonuçlarıyla uyumludur. Çalışmamızda, kronik böbrek yetmezlikli hastalarda kromozomal anormallik frekansında kontrole göre anlamlı artış belirlenmiştir. Fakat, hemodiyalize giren diyabetik KBY'li hastalarda diyabetik olmayan KBY'li hastalara göre kromozomal anormallik frekansı bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır. Çinkılıç ve arkadaşları (2009) Tip 1 diyabeti olan hastaların kromozomal anormallik frekansında kontrole göre önemli bir fark olmadığını belirtmişlerdir [Çinkılıç ve ark., 2009]. Bizim çalışmamızın ve yapılan diğer çalışmaların sonuçlarına dayanarak; hemodiyalize giren KBY'li hastalarda kromozomal anormallik frekansının arttığı söylenebilir. Ancak diyabetik ve diyabetik olmayan KBY'li hastalarda KA frekansı yönünden anlamlı fark olmadığı belirlenmiştir.

Mitotik indeks, hücre proliferasyonunun ve sitotoksitenin belirlenmesinde kullanılan önemli göstergelerden biri olup, sitogenetik bir test olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [Eroğlu ve ark., 2007]. Mitotik indeksteki değişiklikler hücre proliferasyonunun etkilendiğini göstermektedir. Bu çalışmada, KBY'li hastalarda Mİ'in kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda azaldığı belirlenmiştir. Mitotik indeksteki azalmanın nedenleri arasında hücrelerin mitoz

girmesini sağlayan G<sub>2</sub> safhasının bloke edilmesi [Van't Hof, 1968], DNA sentezinin engellenmesi, DNA sentezi için gerekli ve iğ oluşumundan sorumlu olan enzimlerin baskılanması ve G<sub>2</sub> periyodunun uzaması gösterilmektedir [Jain ve Andsorbhoy, 1988; Hidalgo ve ark., 1989]. Çalışmamızda, diyabetik KBY'li hastalarda mitotik indeksin düştüğü, fakat bu düşüşün anlamlı olmadığı tespit edilmiştir. Ancak, ferritin değeri 500 ng/ml'nin üzerinde olan hastalarda mitotik indeks frekansında önemli düzeyde düşüş belirlenmiştir. Ferritin, depo demirinin iyi bir göstergesidir [Çavdar ve Çelik, 1998]. Kronik böbrek yetmezliğinde görülen önemli komplikasyonlardan birisi olan anemi demir takviyesi ile tedavi edilmektedir [Delmas-Beauvieux ve ark., 1995]. Tedavide, demir yükü arttığında, serbest demirin dokulara girişi hızlanır ve demir iyonları serbest radikal oluşumuna sebep olur ve bu durum DNA'da hasar meydana getirir [Aydınok, 2007; Gao ve ark., 2009; Pra ve ark., 2012]. Ayrıca demir, genotoksik hasardan başka hücrelerde deformasyonlara da neden olmaktadır [Hartwig ve Schlepegrell, 1995]. Ferritin değeri yüksekliği, dolayısıyla fazla demirin meydana getirebileceği DNA'daki hasar ve hücrelerdeki deformasyon, hücre bölünmesini etkileyerek mitotik indeksi etkilemiş olabilir. Literatürde, hemodiyalize giren kronik böbrek yetmezlikli hastalarda mitotik indeks değerini gösteren çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada hastaların ortalama Kt/V değeri 1.51 olarak belirlenmiştir. Hemodiyaliz hastaları için önerilen standart Kt/V değeri 1.2'nin üstüdür. Hastalarda belirlenen değer hemodiyalizin yeterli oranda yapıldığını göstermektedir. Urr değeride en az %70 ve üstü olması gerekmektedir. Bu çalışmada hastaların Urr değeride 72.4 olarak tespit edilmiştir. Urr değeride diyaliz yeterliliğini ölçmektedir. Çalışmamızda Kt/V değerini destekler nitelikte Urr değeride diyalizin yeterli oranda yapıldığını göstermektedir. Bununla birlikte yapılan korelasyon analizleri sonucunda; diyalizin etkinliğini belirleyen parametrelerden üre azalma oranı (Urr) ve diyaliz etkinliğini ölçen indeks (Kt/V) değerleri arttığça kromozomal anormallik frekansının istatistiksel olarak anlamlı oranda arttığı belirlenmiştir. Bu sonuç diyaliz etkinliği arttığça KA oranının da arttığını göstermektedir. Diyaliz sırasında kullanılan kimyasalların, mekanik hasarın ve diğer etkenlerin buna neden olabileceği düşünölmektedir. Nitekim Bagatini ve arkadaşları (2008) KBY hastalarına

hemodiyaliz uygulamasından sonra DNA hasar seviyesinin daha da arttığını tespit etmişlerdir.

İnsan lenfositlerinde, en yaygın kullanılan genotoksisite testlerinden bir diğeri de kardeş kromatid değişimi (KKD) testidir. KKD, kromozom morfolojisinde bir değişme olmadan, bir kromozoma ait iki kromatidin homolog bölgelerindeki kırılan parçaların karşılıklı yer değiştirdikten sonra tekrar birleşmesi ile oluşmaktadır [David ve Thompson, 2007]. Kardeş kromatid değişimlerinin frekansında meydana gelen artışlar, genotoksisitenin değerlendirilmesinde ve DNA hasarına neden olan ajanların erken biyolojik etkilerinin belirlenmesinde oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [Bolognesi, 2003]. KKD'nin kesin moleküler mekanizması bilinmemesine rağmen DNA hasarının ve yanlış DNA tamirinin KKD'ye neden olduğu düşünülmektedir [Bozkurt ve ark., 2004].

Kardeş kromatid değişimi testine göre kronik böbrek yetmezlikli hastaların periferik lenfositlerinde KKD frekansında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda artış gözlenmiştir. Ancak diyabetik ve diyabetik olmayan KBY'li hastaların KKD frekansında önemli bir fark belirlenmemiştir. Yaşı 50'den küçük olan KBY hastalarının KKD frekansı, yaşı 50'den büyük olan hastalara göre önemli düzeyde artmıştır. Yaş ve kardeş kromatid değişimi arasındaki ilişkiyi belirlemek için yapılan çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Çalışmamızın sonuçları Park ve ark., (1992) ve Carbonell ve ark., (1995)'nin sonuçları ile uyumludur. Buna karşın, bazı araştırmacılar sağlıklı popülasyonda yaptıkları çalışmalarda, yaş arttıkça KKD frekansında arttığını tespit etmişlerdir [Schmidt ve Sanger, 1981; Bender ve ark., 1989; Lazutka ve ark., 1994; Kumar ve ark., 2012]. Çalışmamızda, yaş arttıkça KKD görülme sıklığının artması, bu gruptaki hastaların diyalize erken başlamalarına ve dolayısıyla hemodiyaliz tedavi süresinin fazla olmasına bağlı olabilir.

Böbrek yetmezliği olmayan diyabetik hastalarla yapılan çalışmalarda da periferik lenfositlerde genetik hasarın arttığı belirlenmiştir. Cinkılıç ve arkadaşları (2009), Tip 1 diyabetli hastalarda KKD frekansının sağlıklı bireylerden yüksek olduğunu belirtmişlerdir (n=35, 5.44±1.47 ve n=15, 2.54±0.82 sırasıyla,  $p < 0.001$ ). Bir diğer

çalışmada, Tip 2 diyabetli 20 hastada ve 15 sağlıklı bireyde KKD oranı incelenmiş ve hastaların KKD frekansının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak arttığı ( $7.81 \pm 0.63$ ,  $6.18 \pm 0.32$ , sırasıyla,  $P < 0.001$ ) bulunmuştur [Sheth ve ark., 2006].

Cengiz ve arkadaşları (1988), üremili hastalarda ( $n= 44$ ) KKD frekansında kontrol grubuna ( $n=24$ ) göre istatistiksel olarak artış tespit etmişlerdir. Ayrıca hemodiyaliz tedavisi gören üremili hastalarda KKD frekansının kontrole göre arttığı belirlenmiştir ( $p<0.05$ ) [Buemi ve ark., 2006]. Öztaş ve ark., (2001); üremili hastalarda kardeş kromati değişimi frekansında ( $9.48\pm0.29$ ) kontrole göre ( $6.51\pm0.24$ ) istatistiksel olarak anlamlı oranda artış tespit etmişlerdir ( $p=0.000$ ).

Genetik etkilerin saptanmasında yararlanılan kriterlerden biri olan replikasyon indeksi (Rİ), hücre siklusu kinetiklerinin ölçülmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır [Çelik ve ark., 2004]. Bizim çalışmamızda, KBY'li hastalarda replikasyon indeksinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda azaldığı gözlenmiştir. Aynı zamanda, diyabetik KBY'li hastaların Rİ'i diyabetik olmayan KBY'li hastalara göre önemli oranda düşmüştür. Replikasyon indeksindeki düşüşler, bu hastalarda, hücre döngüsünün sentez safhasından önce etkilendiğini göstermektedir [Soloneski ve ark., 2002; Çelik ve ark., 2004]. Literatürde, hemodiyalize giren kronik böbrek yetmezlikli hastalarda söz konusu indeksle ilgili yapılan çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak sadece diyabetik hastaların replikasyon indeksinin kontrole göre arttığı tespit edilmiştir [Sheth ve ark., 2006].

Bu çalışmaya dahil olan tüm hastalar değerlendirildiğinde, hastaların yaşları arttıkça KKD frekansları ve Rİ değerleri azalmıştır ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Yaş arttıkça hücrelerin bölünme yeteneği yavaşlamış olabilir.

Çeşitli kimyasal maddelerin ve fiziksel ajanların, memelilerde klastojenik ve anöjenik aktivitelerinin belirlenmesinde mikronükleus tekniği (MN); yaygın olarak kullanılmaktadır [Kirsch-Volders ve ark., 2011]. Mikronükleuslar, asentrik kromozom materyalinden ya da iğ ipliklerinden ayrılarak kutuplara göç edemeyen

kromozomlardan meydana gelirler. Telofazda ayrı kalmış kromozomlar ve fragmentlerin etrafında çekirdek zarı teşekkül eder ve böylece ana nükleusdan daha küçük yapıda olan mikronükleuslar oluşur [Fenech, 2000; Kirsch-Volders ve ark., 2011]. *In vitro* mikronükleus testi, kromozom kayıplarının tam olarak belirlenebilmesi açısından oldukça kullanışlı, hızlı ve güvenilir bir test tekniğidir [Fenech, 2000]. MN, tümör hücrelerinde, DNA tamir mekanizması zarar görmüş hücrelerde ve hücre siklusu kontrol noktaları bozulmuş hücrelerde yüksek bulunmuştur [Terrades ve ark., 2010].

Mikronükleus (MN) testi sonuçlarına göre; KBY hastalarında MN frekansı kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı oranda artmıştır. Diyabeti olan ve olmayan KBY hastaları arasında MN frekansı bakımından belirgin bir fark gözlenmemiştir. Yapılan bazı çalışmalara göre; insan periferik lenfositlerinde artmış MN frekansı ile kanser insidansı arasında önemli bir korelasyon vardır [Bonassi ve ark., 2007; Parry ve Kirsch-Volders, 2010; Preston ve ark., 2010].

Kronik böbrek yetmezliği (KBY) olan hastalardaki olası genom hasarının varlığı farklı çalışmalarla da incelenmiştir. Stopper ve arkadaşları (1999), hemodiyaliz tedavisi uygulanmamış ve böbrek yetmezliğinin son aşamasında olan KBY hastalarının (n=19, 28.2±/9.4 MN/1,000 BN) ve uzun süre hemodiyaliz tedavisi uygulanmış KBY hastalarının (n=16, 44.3±/13.7 MN/1,000 BN) periferik lenfositlerinde mikronükleus frekanslarında kontrol grubuna (n=23, 15.3±/4.7) göre belirgin artış tespit etmişlerdir [Stopper ve ark., 1999]. Araştırmacılar; uzun süreli hemodiyaliz tedavisi uygulanan ve ilerlemiş böbrek yetmezliği olan hastalardaki yüksek MN frekansının, düşük DNA tamirinden kaynaklanabileceğini ve dolayısıyla bu hastalarda kanser sıklığının artmasına yol açabileceğini vurgulamışlardır.

Roth ve arkadaşları (2008); 20 hemodiyaliz, 20 peritonik diyaliz tedavisi uygulanan hastada ve 40 sağlıklı bireyde olası genom hasarını yanak epiteli hücrelerinde mikronükleus testi ile araştırmışlardır. Çalışma sonucunda hemodiyaliz tedavisi gören hastaların (n=20, MNC; 5.60 ± 5.31) mikronükleus frekansının kontrole (n=40, 1.50 ± 2.01, p< 0.01) göre anlamlı oranda artmış olduğunu belirlemişlerdir. Peritonik

diyaliz tedavisinin ise MN sıklığını etkilemediği belirtilmiştir. Hemodiyaliz hastalarında uygulanan tedavinin süresinin de mikronükleus frekansını artırdığı belirtilmiştir. Altı yıldan daha az süre hemodiyaliz tedavisi uygulanan hastalarda ( $2.91 \pm 2.74$ ), yedi ve daha fazla süre hemodiyaliz tedavisi uygulanan hastalara ( $8.89 \pm 5.96$ ) göre, mikronükleus miktarınının daha düşük olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Roth ve arkadaşları (2008) yaptıkları çalışmanın sonuçlarına göre, peritoneal diyaliz tedavisinin daha güvenilir bir yöntem olabileceğini belirtmişlerdir.

Fragedaki ve arkadaşları (2005), günlük hemodiyaliz ve standart hemodiyaliz tedavisi uygulanan hastaların periferik lenfositlerindeki olası genom hasarını mikronükleus testiyle araştırmışlardır. Standart hemodiyaliz tedavisi uygulanan hastalarda ( $n = 12$ ,  $29.1 \pm 5.9$ ), günlük hemodiyaliz tedavisi uygulanan hastalara ( $n = 13$ ,  $14.8 \pm 4.0$ ) ve kontrole ( $n = 12$ ,  $13.2 \pm 3.04$ ) göre mikronükleus frekansının önemli düzeyde arttığını tespit etmişlerdir ( $P < 0.01$ ). Araştırmacılar günlük hemodiyalize giren hastaların periferik lenfositlerindeki genetik hasarın, standart hemodiyalize giren hastalara göre daha düşük olmasının, üremik toksinlerin düşük konsantrasyonları sebebiyle olabileceğini belirtmişlerdir. Bu sonuçları doğrulamak için klinik denemelere ihtiyaç olduğunu vurgulamışlardır.

Schupp ve arkadaşları (2006); standart hemodiyalizin başlangıcında olan hastalarda, standart hemodiyalizden hemodiafiltrasyona geçen hastalarda ve günlük hemodiyalize giren hastalardaki genetik hasarı periferik lenfositlerde mikronükleus testi araştırmışlardır. Buna göre; hemodiyalizin başlangıcında olan hastalarda MN frekansında kontrole göre artış belirtmişlerdir ( $P < 0.05$ ). Bununla birlikte; günlük hemodiyalize giren hastaların, standart hemodiyalize giren hastalara göre MN frekansında istatistiksel olarak önemli düzeyde düşüş belirlenmiştir. Araştırmacılar bu düşüşü, günlük hemodiyalize giren hastaların, plazma konsantrasyonlarındaki ürenin anlamlı oranda azalması ile ilişkilendirmişlerdir.

Kobras ve arkadaşları (2006); hemodiyalizin başlangıcındaki hastalarda ve hemodiafiltrasyon uygulanan hastalarda, mikronükleus frekansında kontrole göre artış olduğunu belirtmişlerdir ( $p < 0.05$ ) Hemodiyalizin başlangıcında olan hastalarla

(34.3±10.4), hemodiyaliz ileri safhalarında olan hastalar (30.3±8.1) arasında MN içeren binükleat hücre sayısında belirgin bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca hemodiyalizden (28.2±10.1) hemodiafiltrasyona (30.7±12.6) geçen hastaların MN frekansında da önemli oranda değişiklik olmadığı belirlenmiştir. Buna göre; uygulanan diyaliz modelinin hastalık faktörlerini etkilemediğini belirtmişlerdir.

Sandoval ve arkadaşları (2010); kronik böbrek yetmezlikli hastaların mikronükleus frekansında kontrole göre artış olduğunu belirlemişlerdir. Hastalarda böbrek fonksiyonlarının azalmasıyla birlikte genetik hasarın arttığı tespit edilmiştir.

Demircigil ve arkadaşları (2011), diyalizin başlangıç aşamasında olan KBY hastası çocukların (PreD), düzenli hemodiyalize giren KBY hastası çocukların (HD) ve transplant KBY hastası çocukların (Tx) periferik lenfositlerinde MN sıklığının kontrol grubuna göre arttığını tespit etmişlerdir [(PreD)  $9.19 \pm 2.61$  (16); (HD)  $9.07 \pm 4.86$  (15); (Tx)  $6.12 \pm 5.33$  (17) ve (kontrol grubu)  $1.60 \pm 0.99$  (20) ( $P < 0.001$ )]. Araştırmacılar, KBY'li çocuk hastalarda iyi bir yaşam beklentisi için, sitogenetik etkileri azaltacak ya da elimine edebilecek yeni çalışmalara gereksinim olduğunu belirtmişlerdir.

Yapılan bazı çalışmalar KBY'li hastalarda MN frekansının kontrole göre değişmediğini göstermektedir. Örneğin, Rangel-López ve arkadaşları (2013) hemodiyalize giren hastalarda mikronükleus frekansında kontrole göre anlamlı bir fark olmadığını belirtmişlerdir. Fakat, periton diyalize giren hastalarda (n=33) MN frekansı kontrole göre (n=61) önemli düzeyde artmıştır ( $41.9 \pm 14\%$ ) ( $P < 0.05$ ). Araştırmacılar KBY hastalarda oksidatif stresin, diyabetin, yaşın ve diyaliz modelinin DNA ve kromozom hasarını artırdığını belirtmişlerdir [Rangel-López ve ark., 2013].

Çalışmamızda KBY'li hastalarda nükleer bölünme indeksi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda azalmıştır ( $p < 0.001$ ). Ayrıca, diyabeti olan KBY'li hastaların nükleer bölünme indeksi diyabetik olmayan KBY'li hastalara göre istatistiksel olarak önemli düzeyde azalmıştır. Yaşı 50'nin üstünde olan KBY'li



hastalarda; yaşı 50'nin altında olan KBY'li hastalara göre nükleer bölünme indeksi önemli oranda azalmıştır. Bonassi ve arkadaşları (2001) mikronükleus frekansının yaş ile beraber arttığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada, KBY'li hastalarda yaş ile beraber NBI'nin azalması, artmış MN frekansına bağlı olabilir. Yaşlanmayla birlikte vücudumuzdaki hücrelerin tamir kapasiteleri azalır ve dolayısıyla genetik hasarda artış meydana gelir [Wilson III ve ark., 2008]. Nükleer bölünme indeksi; mitojen cevapta ve lenfositlerdeki bağışıklık sistemi fonksiyonlarında biyomarkır olarak kullanılmasıyla birlikte, çeşitli kimyasalların sitotoksik etkilerinin de belirlenmesini sağlar [Eastmond ve Tucker, 1989; Fenech, 2007]. Diğer yandan, nükleer bölünme indeksi çekirdek bölünmesinin miktarı hakkında fikir vermektedir. Sitokinezi bloklanmış hücreler, bölünme geçirmezse tek çekirdekli (mononükleat) hücreler oluşur. Eğer bu hücreler bir kez bölünürse iki çekirdekli (binükleat) hücreler meydana gelir. Çekirdek sayısı ikiden fazla olan hücreler ise birden fazla bölünme geçirmiştir [Gomez-Arroyo ve ark., 2004, Ionescu ve ark., 2011]. Bu bilgilerden yola çıkarak KBY'nin veya KBY'li hastalara uygulanan tedavinin ya da tedavide kullanılan yöntemlerin hücre çoğalmasını ve hücre proliferasyon kinetiklerini etkilediği söylenebilir.

Yapılan korelasyon analizleri sonucunda; hemodiyaliz tedavi süresi arttıkça MN frekansının arttığı ancak bu artışın anlamlı olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca, diyaliz etkinliğini ölçen indeks olan Kt/V değeri arttıkça MN frekansının azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır. Diyalizin etkin bir şekilde yapılarak üremik toksinlerin azalması MN frekansının azalmasına sebep olmuş olabilir. Roth ve arkadaşları (2008), buccal hücrelerde tedavi süresi ile MN frekansı arasında pozitif ilişki belirtmişlerdir. Kt/V değeri arttıkça KA frekansının anlamlı oranda artması, MN frekansının ise önemli düzeyde azalması diyaliz nedeniyle maruz kalınan işlemlerin anöjenik değil klastojenik etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada uygulanan bir diğer genotoksisite testi de comet testidir. Comet testi [tek hücre jel elektroforezi (SCGE)] primer DNA hasarını ve tamirini belirlemede kullanılan hassas, güvenilir ve hızlı bir metoddur [Singh ve ark.,1988; Tice ve ark.,

2000; Ghazalla ve ark., 2010]. DNA hasarı yüksek olan hücrelerde, kromozomal DNA, hücre çekirdeğinden anoda doğru büyük göç göstermektedir [Singh ve ark., 1988]. Kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti comet analizinde yaygın olarak kullanılan parametrelerdir [Tice ve ark., 2000; Hartmann ve ark., 2003; Collins, 2004]. Araştırmacılar kuyruk uzunluğunun doğrudan fragment büyüklüğü ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir [Olive, 1999; Tice ve ark., 2000; Collins, 2004]. Kuyruk yoğunluğunun da yüksek DNA hasarında arttığı ve kırık frekansıyla direkt olarak ilişkili olduğu belirlenmiştir. Kuyruk momenti ise; kuyruk uzunluğu ve kuyruk yoğunluğunun arasındaki ilişkiyi veya comet baş ve kuyruk merkezi arasındaki mesafeyi gösteren bir parametredir ve göç eden DNA'nın saptanabilen en küçük parçasını ve kırık sayısını ölçer [Olive ve ark.,1990; Fairbain ve ark., 1995; Collins, 2004]. Bu nedenle, çalışmamızda primer DNA hasarı belirlemek için her üç parametreye de ait sonuçlar değerlendirilmiştir.

KBY'li hastalarda comet kuyruk uzunluğu ve kuyruk momentinde kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı oranda artış belirlenmiştir. Diyabetik ve diyabetik olmayan KBY hastaları birbiri ile karşılaştırıldığında; diyabetik hastaların comet kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momentinde artış olduğu fakat bu artışın anlamlı olmadığı tespit edilmiştir. Nguyen-Khoa ve arkadaşları (2001) hemodiyalize giren hastalarda, diyabetin oksidatif DNA hasarı üzerinde etkisi olmadığını belirtmişlerdir. Ersson ve arkadaşları (2012), hemodiyalize giren diyabetik KBY'li hastalarda, diyabetik olmayan KBY'li hastalar arasında DNA hasarı frekansları bakımından önemli bir fark olmadığını tespit etmişlerdir. Buna karşın, Nas (2011) KBY ve periton diyaliz tedavisine ilave olarak diyabetin DNA hasarını diyabetik olmayan gruba göre artırdığını gözlemlemiştir ( $p<0.001$ ).

Bu çalışmada, yapılan diğer çalışmaların sonuçlarıyla uyumlu olarak kronik böbrek yetmezlikli hastaların periferik lenfositlerinde, DNA kırıklarında kontrole göre artış olduğu belirlenmiştir. Stoyanova ve arkadaşları (2010) böbrek yetmezliğinin ilerlemesiyle genetik hasarın arttığını ve hemodiyalize giren hastalarda ise oksidatif DNA hasarının en yüksek seviyeye ulaştığını tespit etmişlerdir. Ayrıca, Ersson ve arkadaşları (2012), hemodiyaliz hastalarında oksidatif DNA hasarlarındaki artışların

kontrole göre daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Bagatini ve arkadaşları (2008), Tip 2 diyabetli KBY'li hastalarda kontrole göre DNA hasarında artış olduğunu belirtmişlerdir (n=25 hasta,  $12.36 \pm 8.04$ ; n=20 kontrol  $7.35 \pm 7.41$ ,  $p=0.014$ ). Hastalara hemodiyaliz uygulamasından sonra ise; DNA hasar seviyesinin daha da arttığı tespit edilmiştir ( $19.76 \pm 12.40$ ,  $p=0.04$ ) [Bagatini ve ark., 2008]. Kato ve arkadaşları (2003) diyabetik hastalarda serumdaki 8-oxodG seviyesinin diyabetik olmayan hastalara göre arttığını gözlemlemişlerdir. Fakat, hemodiyalize giren hastaların tükürük bezi dokusunda yapılan comet testiyle, kontrole göre DNA kırıklarında azalma belirtilmiştir [Ersson ve ark., 2011].

Stopper ve arkadaşları (2001) ise, ciddi kronik böbrek yetmezliği olan kişilerde, hastalığın uzun süreli hemodiyaliz tedavisiyle hafifletilmesi sonrasında hastalarda meydana gelebilecek genom hasarını comet tekniğini kullanarak araştırmışlardır. Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda (n=23,  $14.7\% \pm 3.5\%$ ) ortalama DNA hasarında (kuyruk bölgesindeki DNA yüzdesi) kontrole göre (n=21,  $10.5\% \pm 0.8\%$ ) artış belirlemişlerdir [Stopper ve ark., 2001]. Araştırmacılar 1999 yılındaki çalışmaların sonuçlarıyla uyumlu olarak bu hastalarda artmış genetik hasarın, azalmış DNA tamiri sonucu kanser sıklığının artabileceğini ve dolayısıyla genomik hasarı azaltabilecek güncel tedavilere ihtiyaç olduğunu vurgulamışlardır.

Comet testiyle yapılan bir diğer çalışmada; hemodiyalizin başlangıcındaki hastalarda ( $p<0.001$ ) ve hemodiyalizden hemodiafiltrasyona geçen hastalarda ( $p<0.0001$ ) DNA hasarında kontrole göre artış olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, hemodiyalizden hemodiafiltrasyona geçen hastaların DNA hasar yüzdesinde önemli düzeyde düşüş olduğu gözlenmiştir (hemodiyaliz,  $13.8 \pm 0.6$ ; hemodiafiltrasyon,  $12.4 \pm 1.0$ ,  $p < 0.05$ ). [Kobras ve ark., 2006]. Aykanat ve arkadaşları (2011) kronik böbrek yetmezliği olan çocuklarda (n=49,  $5.22 \pm 1.57$ ), tedavinin başlangıcında olan hastalarda (n=17,  $4.92 \pm 1.23$ ), düzenli hemodiyalize giren hastalarda (n=15,  $4.91 \pm 1.35$ ) ve böbrek transplantasyonlu hastalarda (n=17,  $5.79 \pm 1.94$ ) DNA hasarının sağlıklı bireylerden (n=20,  $2.74 \pm 2.91$ ) ( $p<0.001$ ) istatistiksel olarak daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca oksidatif DNA hasarının belirlenmesinde kullanılan enzim modifiyeli comet testiyle, tedavinin başlangıcında olan hastalarda ve rutin

hemodiyalize giren hastalarda, kontrol grubuna göre oksidatif DNA hasarında artış olduğu gözlenmiştir ( $p<0.05$ ) [Aykanat ve ark., 2011]. Araştırmacılar, hem hemodiyaliz tedavisi uygulanan hastalarda hem de transplantasyonlu hastalarda DNA hasarında artış olduğunu belirtmişlerdir. Genetik hassasiyetin belirlenmesinde, DNA-tamir enzim poliforfizm çalışmalarını da içeren daha geniş populasyonlu çalışmalara ihtiyaç olduğunu vurgulamışlardır.

Rangel-López ve arkadaşları (2013) ise; hemodiyaliz ve periton diyaliz hastalarındaki olası genetik hasarı comet testi ile araştırmışlardır. Bunun için; 33'ü periton diyalize giren, 35'i hemodiyalize giren olmak üzere toplam 91 KBY'li hasta ve 61 sağlıklı birey (kontrol) değerlendirmeye alınmıştır. Yapılan comet analizi sonucunda; periton diyaliz tedavisi uygulanan hastaların comet kuyruk uzunluğunda anlamlı artış belirlenirken ( $14.8 \pm 7\%$ ) ( $P < 0.001$ ); hemodiyalize giren hastalarda önemli fark olmadığı tespit edilmiştir.

Müller ve arkadaşları (2004) ise; hemodiyalize giren üremik hastalarda comet testi ile oksidatif DNA hasarında kontrole göre artış olduğunu belirlemişlerdir ( $p<10^{-12}$ ). Hemodiyaliz tedavisi uygulanan üremili hastalarda yapılan başka bir çalışmada da; DNA hasarının kontrole göre arttığı belirlenmiştir ( $p<0.05$ ) [Buemi ve ark., 2006].

Periton diyaliz tedavisi gören hastalarda comet test tekniğini kullanılarak yapılan çalışmada; DNA hasarında anlamlı oranda artış gözlenmiştir. Ayrıca periton diyaliz tedavisi alan KBY'li hastalarda diabetes mellitus olmasının, comet kuyruk uzunluğunu artırdığı belirtilmiştir [Nas, 2011]. Periton diyaliz uygulanan hastalarda DNA hasarının kontrol grubuna göre yüksek çıkmasının; kronik böbrek yetmezliğiyle, hastalığın progresyonuyla ve periton diyaliz tedavi yöntemiyle ilişkili olabileceği vurgulanmıştır. Ayrıca, serumda ferritin fazlalığının olmasının ve hastalarda diyabetes mellitus varlığının bu durumu daha da artırabileceği belirtilmiştir.

Çalışmamızda, vücut kitle indeksi (VKİ)  $25 \text{ kg/m}^2$ 'den büyük olan KBY'li hastalarda comet kuyruk uzunluğu ve kuyruk momenti, VKİ'si  $25 \text{ kg/m}^2$ 'den küçük KBY'li

hastalara göre istatistiksel olarak önemli oranda artmıştır. Artmış vücut kitle indeksi oksidatif stres kaynaklı DNA hasarı ile ilişkilendirilmektedir [Hofer ve ark., 2006; Al-Aubaidy ve ark., 2011]. Al-Aubaidy ve ark., (2011) diyabetik hastalarda ( $30.7 \pm 5$   $\text{kg/m}^2$ ) kontrole göre ( $27.3 \pm 4.4$   $\text{kg/m}^2$ ) vücut kitle indeksinde önemli düzeyde artış belirlemişlerdir ( $P < 0.001$ ). Ayrıca, diyabetli hastalarda obezitenin ( $\text{VKİ} \geq 30.0$   $\text{kg/m}^2$ ), kan glukoz seviyesini artırarak oksidatif DNA hasarına yol açtığını tespit etmişlerdir [World Health Organization, 2003; Al-Aubaidy ve ark., 2011]. Vücut kitle indeksi  $25 \text{ kg/m}^2$ 'den büyük olan bireylerde görülen ölümlerin özellikle akciğer kanseri ile ilişkili olduğu belirtilmiştir [Whitlock ve ark., 2009].

Bu çalışmada, parathormon (PTH) değeri  $300 \text{ pg/ml}$ 'den büyük olan KBY'li hastaların comet kuyruk uzunluğunda, PTH'sı  $300 \text{ pg/ml}$ 'den küçük olan KBY'li hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenmiştir. Bununla birlikte, PTH ile kuyruk uzunluğu arasında pozitif ve anlamlı korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Yüksek parathormon seviyesi D vitamini eksikliğiyle ilişkilendirilmektedir [Pepe ve ark., 2005; Reheem ve Fattah, 2013]. D vitamini ve parathormon konsantrasyonları kalsiyumun metabolizması ile yakından ilişkilidir. Serum kalsiyum düzeyi azaldığında, parathormon ve D vitamini kalsiyum seviyesini değiştirmeye çalışır. Bu olay sırasında, D vitaminin seviyesi düşerken, parathormon konsantrasyonunda artış meydana gelir [Pepe ve ark., 2005]. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda; kardiyovasküler hastalıklar ve mortalite açısından yüksek risklerin, yüksek parathormon ve D vitamininin aktif hormonal yapısı olan düşük kalsitriol (25-OHD) seviyesiyle ilgili olduğu kanıtlanmıştır [Dobnig ve ark., 2008; Wang ve ark., 2008b; Melamed ve ark., 2008; Deo ve ark., 2011]. Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda sıklıkla, kalsidol ve kalsitriolün eksik olduğu belirlenmiştir [Jones, 2007]. Ayrıca, kalsitriol (1 $\alpha$ , 25-dihidroksi vitamin) [(1,25 (OH) 2D3] tümör hücre bölünmesi ve farklılaşması üzerinde inhibe edici etkiye sahiptir [Shokravi ve ark., 1995; Fleet, 2008]. D vitamini eksikliği; otoimmün hastalıklar, diyabet, hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser ile ilişkilendirilmektedir [Holick, 2007; Pittas ve ark., 2007; Forman ve ark., 2007; Pittas ve ark., 2010]. Araştırmacılar, kalsitriol seviyesindeki bu azalmanın birçok kanser türü için risk oluşturduğunu ve kanserli hastalarda kalsitriolün seviyesinin düşük olduğunu belirtmişlerdir [Tretli ve ark.,

2009; Goodwin ve ark., 2009]. Yüksek dozdaki vitamin D takviyesinin kronik hastalıklardan, kardiyovasküler hastalıklardan, enfeksiyonlardan ve kanserden koruduğu gözlenmiştir [Bassuk ve Manson, 2009; Tuohimaa, 2011].

Hemodiyaliz tedavisi uygulanan hastalar D vitamini eksikliğinden kaynaklanan sağlık sorunlarıyla karşı karşıyadır [Wolf ve ark., 2007; Wang ve ark., 2008b; Holick ve ark., 2011]. Bu nedenle bu hastalara D vitamini takviyesi yapılmalıdır [Wang ve ark., 2010]. D vitamininin antikanserojenik, antiinflamatuvar, antiapoptotik ve antianjiogenesis etkilerinin olduğu belirlenmiştir [Bayer, 2011]. Shoben ve arkadaşları (2008) D vitamini takviyesinin KBY'li hastalarda ölüm oranını azalttığını tespit etmişlerdir. Hemodiyalize giren hastalarda enfeksiyon kaynaklı ölümlerin D vitamini eksikliği sebebiyle olduğu belirtilmiştir [Liu ve ark., 2006; Liu ve ark., 2007]. Araştırmacılar; D vitamini seviyesindeki azalmaların kanser insidansı ve kanser kaynaklı ölümleri artırdığını belirtmişlerdir [Goodwin ve ark., 2009; Tretli ve ark., 2009; Arends, 2011].

Comet testinin korelasyon analizi sonuçlarında ise; KBY'li hastalarda ferritin miktarı arttıkça comet kuyruk uzunluğunda anlamlı artış olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, parathormon değeri ile comet kuyruk uzunluğu arasında anlamlı, pozitif ancak zayıf bir korelasyon olduğu belirlenmiştir. Ersson ve arkadaşları (2012)'nin sonuçlarıyla uyumlu olarak bu çalışmada, Kt/V ile Urr değerleri ve DNA hasarı arasında anlamlı bir ilişki belirlenmemiştir. Ayrıca, Müller ve arkadaşları (2004)'nin sonuçlarıyla uyumlu olarak çalışmamızda yaş ile DNA hasarı arasında da ilişki olmadığı belirlenmiştir. Buna karşın, bir başka çalışmada yaş ve DNA kırıkları arasında pozitif korelasyon olduğu belirtilmiştir [Ersson ve ark., 2012]. Kato ve arkadaşları (2003) ise, yaş ve serumdaki 8-oxodG'nin düzeyi arasında pozitif korelasyon olduğunu tespit etmişlerdir. Genel popülasyona bakıldığında, yaşlanmayla birlikte DNA hasarının sıklıkla arttığı belirtilmiştir [Humphreys ve ark., 2007].

Bu çalışmada, hemodiyaliz (HD) tedavi süresi ile primer DNA hasarı arasında negatif korelasyon olduğu ancak bu ilişkinin anlamlı olmadığı belirlenmiştir. Yapılan diğer çalışmalarda ise hemodiyaliz tedavi süresinin etkileri tartışmalıdır. Bazı

çalışmalarda HD tedavisinin süresi ile DNA hasarı arasında bu ilişki saptanmamış [Kan ve ark., 2002; Ersson ve ark., 2008; Bagatini ve arkadaşları 2008; Aykanat ve ark., 2011] veya negatif korelasyon [Stoyanova ve ark., 2010] gösterdiği belirtilmiştir. Buna karşın yapılan bazı çalışmalarda, HD tedavi süresi ile DNA hasarı arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir [Stopper ve ark., 1999, 2001; Groothoff, 2005; Zachara ve ark., 2011]. Diyaliz süresi ile DNA hasarı arasındaki ters ilişkinin, hastalara verilen vitamin ve antioksidan desteğine bağlı olabileceği ifade edilmiştir [Stoyanova ve ark., 2010]. Ayrıca bu durumun sebebi kısa süreli tedavi de olabilir. Kan ve ark., (2002) 3.5 yıl; Aykanat ve ark., (2011) ise yaklaşık 2.5 yıl hemodiyaliz tedavisi gören hastalarda çalışmışlardır. Stopper ve ark., (2001) ise; 10 yıldan daha fazla süre hemodiyaliz tedavisi gören hastalarda DNA hasarındaki artışın daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Bu durum uygulanan tedavi süresinin uzun süreli olmasıyla açıklanabilir [Stopper ve ark., 2001]. HD tedavi süresinin artışına paralel olarak oksidan stresin arttığı, antioksidan kapasitenin ise azaldığı gösterilmiştir [Köken ve ark., 2002a]. Aynı zamanda bu hastalarda, DNA tamirinde azalma ve kanser sıklığında artış meydana geldiğini açıklamışlardır [Stopper ve ark., 1999, 2001; Teschner ve ark., 2002]. Bizim çalışmamızda ise anlamlı sonuç çıkmamasının sebebi; hemodiyaliz tedavi süresinin 4 yıldan (ortalama) kısa olmasına bağlı olabilir.

Yapılan araştırmalar KBY'li hastalardaki genomik hasarın oksidatif stres kaynaklı olduğunu göstermektedir [Kitiyakara ve ark., 2000; Tepel ve ark., 2000; Stoyanova ve ark., 2010]. Ayrıca diabetes mellitus [Miyazaki ve ark., 2007; Al-Aubaidy ve ark., 2011], hemodiyaliz tedavisi [Tarnę ve ark., 2001; Ersson ve ark., 2012], üremik toksinler [Fink ve ark., 2007; Schupp ve ark., 2010], anemi [Usberti ve ark., 2002; Süleymanlar, 2009] ve diyalizde kullanılan membran türleri [Tarnę ve ark., 2000a; Dursun ve ark., 2005] gibi pek çok faktör oksidatif stresin oluşumuna sebep olmaktadır.

Araştırmacılar, kronik böbrek yetmezliğinde progresif fonksiyon kaybının ve artmış genetik hasarın oksidatif stres ile ilişkili olduğunu açıklamışlardır [Ward ve Leish, 1995; Canaud ve ark., 1999; Stoyanova ve ark., 2010]. Renal replasman tedavisi alan/almayan tüm KBY hastaları, artmış bir oksidatif stresle karşı karşıyadır

[Kitiyakara ve ark., 2000; Descamps-Latscha ve Witko-Sarsat, 2001]. Fizyolojik şartlarda insan vücudunda oluşan reaktif oksijen ürünleri (ROT) ile antioksidan savunma bir denge halindedir [Canaud ve ark., 1999]. Serbest radikallerin aşırı üretimi ve antioksidan savunmanın azalması, biyomoleküllerde yapı ve fonksiyonel modifikasyonlara yol açarak oksidatif strese neden olur [Dean ve ark., 1997; Canaud ve ark., 1999]. Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbohidratlar gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler ve de yapılarının bozulmalarına neden olurlar [Babior, 2000]. Böbreklerdeki glomerüler hücrelerin, nötrofillerin monosit/makrofajların ve trombositlerin normal işlevleri esnasında meydana gelen reaktif oksijen türleri (ROT), renal hücrelerin enerji üretimi ve transport fonksiyonlarında hasara neden olurlar, ayrıca morfolojik lezyonların oluşumundan sorumlu oldukları düşünülmektedir [Ward ve Leish, 1995]. Oksidatif stres 8-hidroksi-2-deoksiguanin (8-OHdG) ile ölçüldüğünde; KBY hastalarında kontrole göre yüksek olduğu belirtilmiştir [Tarng ve ark., 2002]. 8-OHdG, oksidatif DNA hasarının ve sistemik oksidatif stresin belirlenmesinde hassas bir belirteçtir [Tsuruya ve ark., 2003]. Ayrıca bu parametrenin kanser ve diyabet için belirleyici bir risk faktörü olduğu düşünülmektedir [Wu ve ark., 2004]. Böbrek hastalığı olanlarda oksidatif strese erken evrelerde de rastlanmıştır ve çeşitli belirteçler tarafından arttığı belirlenmiştir [Oberge ve ark., 2004; Kao ve ark., 2010]. Böbrek fonksiyonlarındaki azalmayla beraber oksidatif stresin seviyesinde de artışlar olmuştur [Terawaki ve ark., 2004; Dounousi ve ark., 2006]. Tepel ve arkadaşları (2000), kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda (n=28) ROT seviyesinde kontrol grubuna (n=27) göre artış belirlemişlerdir (p<0.01). Ayrıca, süperoksid dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi enzimlerin aktivitesinde azalmanın da kronik böbrek yetmezliğine yol açtığı belirtilmiştir [Dursun ve ark., 2005].

Tarng ve arkadaşları (2000b) çalışmalarında, granülositlerdeki intrasellüler ROT üretiminin diyalize girmeyen KBY hastalarında, sağlıklı kontrol grubuna göre artmış olduğunu belirtmişlerdir. KBY hastalarında, artmış oksidatif metabolik aktiviteye bağlı olarak, lökositlerde ROT düzeylerinde artış belirtilmiştir [Rhee ve ark. 1986]. DNA'daki oksidatif hasar zamanla yapısal ve fonksiyonel kromozom değişikliklerine sebep olabilir [Loft ve Paulson, 1996]. DNA'daki bu değişimler kanser ve diğer



kronik hastalık şartlarının oluşmasına yol açabilir [Sheth ve ark., 2006]. Oksidatif stresin KBY'li hastalarda, kardiyovasküler hastalıkların da artışından sorumlu olduğu düşünülmektedir [Andreassi, 2008; Sandoval ve ark., 2010]. Ayrıca KBY hastalarında kansere yakalanma sıklığının genel popülasyona göre yüksek olduğu belirtilmiştir [Heidland ve ark., 2000; Stopper ve ark., 2001; Roth ve ark., 2008; Sandoval ve ark., 2010; Zachara ve ark., 2011]. Böbrek yetmezliğinin son aşamasında olan hastalarda bu riskin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [Vamvakas ve ark., 1998]. Bu artan sıklık, bu hastalardaki yüksek seviyedeki genetik hasar ile ilişkilidir [Sebekova ve ark., 2007]. Genetik hasarda artış, genetik kararsızlığa yatkınlık ile sonuçlanabilir ya da ortaya çıkan genotoksik bileşiklerin varlığı ile kronik böbrek patolojisi meydana gelebilir [Stoyanova ve ark., 2010].

Kronik böbrek yetmezliğine götüren en önemli nedenlerden biri diabetes mellitus'dur [Süleymanlar, 2009; Türk Nefroloji Derneği, 2012]. Diyabetin, reaktif oksijen türlerinin üretimini artırdığı ve artmış oksidatif DNA hasarı ile ilişkisi olduğu ortaya konmuştur [Sardaş ve ark., 2001; Dursun ve ark., 2005; Miyazaki ve ark., 2007; Al-Aubaidy ve ark., 2011; Tabak ve ark., 2011]. Diyabetin mikro ve makrovasküler komplikasyonları ve hipergliseminin de etkileriyle ortaya çıkan reaktif oksijen türlerinin, DNA bazlarının ve şeker fosfat bağlanma yerlerinin oksidasyonu sağlayarak DNA hasarına yol açtığı belirlenmiş, ayrıca bu durumun diyabetik nefropati varlığında daha da arttığı açıklanmıştır [Zhang ve ark., 2007; Simone ve ark., 2008]. Buna karşın; Tabak ve arkadaşları (2011); Tip 2 diyabetli hastalarda (n: 69) 8-hidroksi-2-deoksiguanin (8-OHdG) ölçümü ile oksidatif DNA hasarı seviyelerinde kontrole göre (n=19) anlamlı bir fark olmadığını belirlemişlerdir. Fakat, komplikasyonlu diyabetik hastalarda (n=20) oksidatif DNA hasar düzeyinin komplikasyonsuz hasta grubundan (n=49) daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $P<0.001$ ).

Sardaş ve arkadaşları (2001); diyabetik hastalarla kontrol grubu arasında oksidatif DNA hasarında anlamlı oranda artış olduğunu belirlemişlerdir ( $P<0.05$ ). Ayrıca, insüline bağımlı diyabetik hasta grubunda; insülininden bağımsız diyabetik hastalara göre hasarlı hücre frekansında önemli düzeyde düşüş olduğu tespit edilmiştir

( $P < 0.05$ ). Araştırmacılar, serumda lipid peroksidlerin seviyesinde, kreatin seviyesinde, ve glisemik kontrol düzeyi hemoglobin A1c (HbA1c) seviyesinde artış tespit etmişlerdir. Buna göre; diyabetin lipid peroksidasyonunu tetikleyerek serbest radikallerin artmasına sebep olduğunu belirtmişlerdir.

Al-Aubaidy ve arkadaşları (2011); Tip 2 diyabeti olan obez ( $VKİ \geq 30.0$  kg/m<sup>2</sup>) hastalarda 8-hidroksi-2-deoksiguanin (8-OHdG) ölçümü ile oksidatif DNA hasarının kontrole göre arttığını belirlemişlerdir ( $P < 0.001$ ). Obezitenin, kan glukoz seviyesini artırarak oksidatif DNA hasarına yol açtığını tespit etmişlerdir. Ayrıca, diyabetik hastalarda vücut kitle indeksi (VKİ) ile 8-OHdG miktarı arasında pozitif korelasyon olduğu tespit edilmiştir.

Diyabetik hastalarda oksidan-antioksidan dengenin bozulduğu belirlenmiştir [Tabak ve ark., 2011]. Kato ve ark., (2003) diyabetik hemodiyaliz hastalarında diyabetik olmayan hemodiyaliz hastalarına göre, serumda önemli bir DNA lezyonu olan 7,8-dihydro-8-oxo-guanine (8-oxodG) seviyesinde anlamlı düzeyde artış belirlemişlerdir. Buna karşın Nguyen-Khoa ve arkadaşları (2001) hemodiyalize giren diyabetik hastalarda oksidatif stress seviyesinde anlamlı bir fark olmadığını tespit etmişlerdir.

Son dönem KBY hastalarının kaçınılmaz tedavilerinden birisi hemodiyaliz (HD) de oksidatif stresi arttırıcı etki göstermektedir [Miyata ve ark., 2000; Tepel ve ark., 2000; Floccari ve ark., 2005; Roth ve ark., 2008]. Ancak oksidatif stresin neden HD hastalarında daha belirgin olduğu tartışılmakta ve hatta diyaliz ortamı, oksidatif stres için bir model kabul edilmektedir [Kitiyakara ve ark., 2000; Descamps-Latscha ve Witko-Sarsat, 2001]. Bu durum, üremi [Roselaar ve ark., 1995], azalmış antioksidan kapasitesi [Kitiyakara ve ark., 2000; Descamps-Latscha ve Witko-Sarsat, 2001] ve hemodiyaliz membranlarının ve intravenöz demir infüzyonunun oksitleyici etkileri gibi birçok faktör yüzünden kaynaklanıyor olabilir [Müller ve ark., 2004]. Herman ve arkadaşları (2008); hemodiyaliz uygulamasının DNA hasarına neden olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, HD uygulamasından sonra DNA tamirinde artış meydana geldiğini ve bu artışın artmış oksidatif stres kaynaklı olabileceğini belirtmişlerdir.

Stoyanova ve arkadaşları (2010), genom hasarının, özellikle böbrek hastalığının ilerlemesiyle ve hemodiyaliz tedavisinin de etkisiyle arttığını belirtmişlerdir. Mevcut literatürler değerlendirildiğinde; aktif nötrofillerden miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ile üretilen süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve klorlu oksidanlar, üremi ve hemodiyalizle ilişkilendirilmekte ve KBY hastalarında gözlenen artmış oksidatif stresin başlıca kaynağı olduğu düşünülmektedir [Yazıcı ve Köse, 2004]. Diyalizin dolaşımdaki nötrofilleri serbest oksijen radikalleri oluşturmak üzere tetiklediği ve antioksidan sistemin de zayıflamasına bağlı olarak, diyaliz hastalarında oksidatif stresin oluşabileceği varsayılmaktadır [Nguyen-Khoa ve ark., 2001]. Hemodiyalizde kan-membran etkileşimi nedeniyle, immün hücrelerin tekrarlayan aktivasyonu, her seansta artan oksidatif stres, hastalardaki yüksek morbidite/mortalite oranının ve kronik komplikasyonların sorumlusu olarak düşünülmektedir [Amore ve ark., 2002].

Ersson ve arkadaşları (2012), hemodiyaliz hastalarında gözlenen oksidatif DNA hasarlarındaki artışların kontrole göre daha yüksek olduğunu ve bu sonucun diğer çalışmalarla da uyumlu olduğunu belirtmişlerdir [Stopper ve ark., 2001; Müller ve ark., 2004; Buemi ve ark., 2006]. Stoyanova ve arkadaşları (2010) hemodiyalize giren hastalarda kronik böbrek yetmezliğinin farklı bir evresinde olan hastalara göre; Müller ve arkadaşları (2004) ise, üremili hastalarda kontrole göre oksidatif DNA hasarında artış tespit etmişlerdir.

Nguyen-Khoa ve arkadaşları (2001) ise; oksidatif stresle ilişkili en önemli faktörün, HD işleminden çok, inflamasyonun derecesi ve tedavinin süresi olduğunu öne sürmüşlerdir. Uzun süreli hemodiyaliz tedavisi uygulanan hastalarda DNA tamir kapasitesinin azaldığı belirtilmiştir [Vamvakas ve ark., 1996]. Onarılamayan DNA lezyonları, erken yaşlanma [Herbert ve ark., 2008; Li ve ark., 2008], arterosklerosis [Mercer ve ark., 2007] ve kansere yatkınlık [Loft ve ark., 1996] gibi ciddi sonuçlar doğurmaktadır. En önemli DNA lezyonu olan 7,8-dihidro-8-oxo-guanine (8-oxodG) böbrek yetmezliğinin son aşamasında olan hastalarda artmıştır [Domenici ve ark., 2005]. Bu lezyon oldukça yüksek bir mutajenik potansiyele sahiptir ve onarılamaması ya da yanlış onarımı G:C eşleşmesi yerine T:A eşleşmesi yaparak transversiyon tipi mutasyona sebep olur. Bu durum tümör oluşumuna yol açar

[Nakabeppu ve ark., 2006]. Böbrek hastalığının son aşamasında olan hastalara uygulanan hemodiyaliz tedavisinin özellikle böbrek kanserine yol açtığı belirtilmektedir [Schupp ve ark., 2010]. Andres (2005), uzun süre diyalize giren hastalarda oluşabilen böbrek kistlerinin de yüksek malignite riski taşıdıklarını belirtmiştir. Ayrıca, HD tedavisi uygulanan hastalarda diyabet, hipertansiyon, yaşlanma ve sigara gibi etkenler de oksidatif stres kaynaklı hasarın daha da artmasına yol açmaktadır [Köken ve ark., 2002b].

Kronik böbrek yetmezlikli hastalara uygulanan diyaliz tedavisi ile birikmiş olan toksinlerin tamamının uzaklaştırılmamasının, toksinlerin seviyesinde artışa ve oksidatif strese sebep olduğu belirtilmiştir [Fink ve ark., 2007; Schupp ve ark., 2010].

HD tedavisi uygulanan KBY'li hastalarında görülen önemli komplikasyonlardan birisi olan aneminin de oksidatif stresle ilişkili olduğu düşünülmektedir [Delmas-Beauvieux ve ark., 1995; Usberti ve ark., 2002; Süleymanlar, 2009]. Böbrek yetmezliğinde aneminin eritropoietin yetersizliği, demir eksikliği, hemoliz gibi birçok nedeni vardır; ancak en sık nedeni eritropoietin yetersizliğine bağlı azalmış eritropoiezdir [Akpolat ve Tokgöz, 2000]. Böbrek tübül hücreleri tarafından salgınlmakta olan eritropoietinin yetersiz yapımı ve salınımı anemiye neden olmaktadır [Usberti ve ark., 2002; Süleymanlar, 2009]. Yapılan çalışmalarda, oksidatif stresin eritrosit yaşam süresini kısalttığı ve eritropoietinin salınımında bozukluğa yol açtığı bildirilmiştir [Usberti ve ark., 2002]. Normal kişilerde eritrosit yaşam süresi ortalama 120 gün olmasına rağmen, KBY'li hastalarda bu süre 73 gündür. Bu azalma normal kişilerde ciddi bir anemiye neden olmadığı halde, KBY'de diğer faktörlerin de etkisi ile ciddi anemiler oluşturmaktadır [Süleymanlar, 2009]. Hemodiyaliz hastalarında demir eksikliğinden kaynaklı anemide ise; hastalar her diyalizde 20 ml'ye kadar kan kaybedilebilir ve dolayısıyla demir kaybı fazladır [Akpolat ve Tokgöz, 2000]. Bu hastalara demir takviyesi yapılmalıdır [Delmas-Beauvieux ve ark., 1995]. Hemodiyaliz hastalarının vücut depo demiri yakından takip edilmeli, herhangi bir kontrendikasyon (serum ferritin düzeyi >1000 µg/litre olmadıkça) yoksa rutin olarak ve sürekli her gün ağızdan demir tedavisi verilmelidir [Akpolat ve Tokgöz, 2000].

Fakat, tedavide demir yükü arttığında, transferrinin demir taşıma kapasitesi dolmakta ve transferrine bağlı olmayan demir (serbest demir) oluşmaktadır. Serbest demirin dokulara girişi hızlıdır ve çok kolaylıkla elektron kazanabilir veya kaybedebilir. DNA negatif yüklü fosfat grupları içerdiğinden, Fe<sup>+2,+3</sup> katyonları rahatlıkla DNA'ya bağlanabilmektedir. Bu bağlanmayla; demir iyonları ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'inin reaksiyonu sonucunda OH<sup>-</sup> radikalleri oluşur (fenton reaksiyonu yolu) ve bu radikal oksidatif DNA hasarına yol açar [Berg ve ark., 2001; Aydınok, 2007].

Hemodiyaliz tedavisinde kullanılan membranın biyoyumsuzluğu da, reaktif oksijen türlerinin önemli bir kaynağı olduğu düşünülmektedir [Tarnag ve ark., 2000a; Dursun ve ark., 2005]. Tarnag ve arkadaşları (2001), HD tedavisinin DNA hasarı üzerine etkisini diyalizde kullanılan selüloz diasetat membran ile ilişkilendirmektedir [Tarnag ve ark., 2001]. Lucchi ve arkadaşları (2005); kuprofan membranın hidrojen peroksit üretiminde artışa yol açtığını; buna karşın polisülfan ve polyamid membranların böyle bir etkiye yol açmadıklarını belirtmişlerdir. Hemodiyaliz tedavisi gören hastalar, tedavide kullanılan membranların kan ile etkileşimi sonucu oksidatif strese kronik olarak maruz kalmışlardır. Tedavi selüloz membranlı diyaliz makinasında yapıldığında, 8-hidroksi-2-deoksiganin (8-OHdG) miktarında artış olduğu gözlenmiştir [Tarnag ve ark., 2000a]. Bu membran, yüksek derecede biyoyumsuz olup, aktive edilmiş granüositlerdeki oksijen metabolizmasını artırır ve bu da ROT üretiminde artış ile sonuçlanır [Müller ve ark., 2004]. Selüloz membran kullanımında, diyalizin ilk 30 dakikasında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretiminde anlamlı düzeyinde artış meydana geldiği belirtilmiştir [Himmelfarb ve ark., 1993; Gastaldello ve ark., 2000]. Müller ve ark., (2004) selüloz membranlı makinada hemodiyalize giren hastalarda kontrol grubuna göre yüksek seviyede DNA hasarı belirlemişlerdir [Müller ve ark., 2004]. Hemodiyaliz, aktive edilen fagositlerin oksidatif metabolizması yoluyla ROT üretimini artırmaktadır. Bu durum membran lipidlerinde, proteinlerde ve DNA'da hasar ile sonuçlanmaktadır [Tarnag ve ark., 2001].

Araştırmacılar, HD tedavisinde membranın biyoyumunun iyi olmasının ve diyetle antioksidan alımının hastalarda oksidatif stresle başa çıkmada etkili olabileceğini bildirmişlerdir [Grooteman ve ark., 1996; Tarnag ve ark., 2002; Müller ve ark., 2004;

Domenici ve ark., 2005]. Bu hastalarda E vitamini kaplı membranlar kullanıldığında oksidatif DNA hasarının azaldığı belirtilmiştir [Tarng ve ark., 2000a; Kan ve ark., 2002; Müller ve ark., 2004; Nakabeppu ve ark., 2006]. Bu membranların, nötrofillerden salınan süperoksit radikallerini ve serum MDA düzeyini azalttığı [Tsuruoka ve ark., 2002], serum okside-LDL [Islam ve ark., 2000] ve 8-hidroksi-2-deoksiganin (8-OHdG) düzeylerini düşürdüğü gözlenmiştir [Satoh ve ark., 2001]. Usberti ve ark., (2002) E vitamini kaplı membranlar ile diyaliz yapıldığında eritrosit miktarının arttığını tespit etmişlerdir. Grooteman ve arkadaşları (1996); hemodiyalizde biyouyumlu membran kullanımının ROT üretiminde artışa sebep olmadığını belirtmişlerdir. Yapılan bazı çalışmalarda; oksidatif stresin artışında diyalizde kullanılan mebrandan çok, bakteriyel kontaminasyonun etkili olduğu sonucuna varılmıştır [Schiffl ve ark., 2001]. Diyaliz sırasında oluşabilecek bakteriyel üretimin diyaliz membranına geçebileceği ve direkt veya indirekt olarak nötrofiller tarafından ROT'ların açığa çıkmasını uyarabileceği belirtilmiştir [Ward ve Leish, 2003]. Diyalizde ultra saf su kullanıldığında inflamasyonda azalma meydana gelmiştir [Schiffl ve ark., 2001; González Rico ve ark., 2006].

Hemodiyaliz (HD) tedavisi uygulanan hastalarda antioksidan sistemde bozukluk oksidanların miktarının artmasına sebep olmaktadır [Köken ve ark., 2004; Dursun ve ark., 2005; Ben-Zvi ve ark., 2007]. Kan membran etkileşimi süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, hidrosil radikali ve hipokloröz asiti içeren sayısız miktarda reaktif oksijen türlerinin üretimini tetikler. Bu durumda glutatyon seviyelerinde ve vitamin C ve E seviyelerinde azalma meydana gelir [Peuchant ve ark., 1994; Ceballos-Picot ve ark., 1996]. Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda E vitaminin seviyesinin düşmesiyle birlikte lipid peroksidasyonunda artış olduğu belirtilmiştir [Konopacka ve ark., 1998]. Bununla birlikte, bu hastalar esansiyel eser elementlerden yoksundurlar [Tonelli ve ark., 2009; Rucker ve ark., 2010]. Selenyum, çinko, bakır gibi eser elementler, bazı proteinlerin aktif yerlerine bağlanarak oksidasyona karşı savunma sağlarlar ve kanser gelişiminden sorumlu olan serbest radikallerin detoksifikasyonundan sorumlu oldukları düşünülmektedir [Valko ve ark., 2006].

Araştırmacılar birçok antioksidan maddenin, organizmada ROT'lara karşı savunma sağladığını belirtmişlerdir. Vitamin A [Slupphaug ve ark., 2003], vitamin C [Moller ve Loft, 2002; Yu ve Paetau-Robinson, 2006; Sardaş ve ark., 2006], vitamin E [Tarng ve ark., 2000a; Kan ve ark., 2002; Domenici ve ark., 2005],  $\beta$ -karoten [Moller ve Loft, 2002; Yu ve Paetau-Robinson, 2006] ve diğer antioksidanların [Ferguson ve ark., 2004, Stopper ve ark., 2008; Cho ve ark., 2009] yapılan çeşitli metodlarla oksidatif strese karşı koruyucu etki gösterdikleri tespit edilmiştir. Hemodiyalize giren hastalara yapılan rutin antioksidan vitamin takviyesinin bir toksin olan homosiyenin seviyesini azalttığı ve bu grupta kardiovasküler hastalıkları minimize ettiği belirtilmiştir [Chiarello ve arkadaşları, 2003].

Antioksidan takviyesinin serbest radikalleri süpürücü etki göstererek hüresel DNA ile etkileşimlerini engellediği ve böylece DNA hasarını azalttığı [Zachara ve ark., 2006; Yu ve Paetau-Robinson, 2006; Stopper ve ark., 2008; Schupp ve ark., 2008] ve böylece kanser gelişimini önlediği belirtilmiştir [Ferguson ve ar., 2004, Stopper ve ark., 2008; Schupp ve ark., 2008]. Düşük antioksidan seviyesine sahip bireylerin kansere daha yatkın oldukları belirlenmiştir [Zachara ve ark., 2011].

Diyabet, böbrek yetmezliği ve hemodiyaliz tedavisi tek başlarına oksidatif strese yol açtığı gibi, bu üç faktör bir aradayken oksidatif stresin çok yüksek seviyelere ulaştığı belirtilmiştir [Ben-Zvi ve ark., 2007]. Kronik böbrek yetmezliği için diyabet, hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıklara sahip bireyler, multidisipliner bir risk faktörüdür [Foster ve ark., 2007]. Oksidatif stres üzerindeki bu kümülatif etki protein, lipid ve nükleik asitler gibi önemli biyomoleküller üzerinde hasara yol açabilir [Hwang ve Kim, 2007]. Ayrıca, diyabet ve kardiyovasküler hastalıkların patogeneğinde ve yaşlanmanın ilerlemesinde etkilidir [Kan, 2002; Trzeciak ve ark., 2012]. Glomeruler filtrasyon hızındaki hafif azalma kardiovasküler risk ile ilişkilidir [Go ve ark., 2004; Gansevoort ve ark., 2013]. Kronik böbrek hastalığının erken tanısının konması arzu edilen bir durumdur. Çünkü erken tanıda glomerül filtrasyon hızında azalmayı belirlemek, kronik böbrek yetmezliğiyle ilişkili olan kardiovasküler riskin azalmasına, böbrek yetmezliğinin gelişimini önlemede ve hatta ölüme müdahalede önemlidir [James ve ark., 2010]. Stopper ve arkadaşları (2001),

KBY'likli hastalarda DNA tamirinin azaldığını tespit etmişlerdir [Stopper ve ark., 2001]. Ayrıca bu hastalarda kanser insidansında artış gözlenmiştir [Stopper ve ark., 2008; Sandoval ve ark., 2010; Zachara ve ark., 2011]. DNA hasarının kanser gelişimi üzerine etkili olduğuna dair çalışmalar vardır [Hwang ve Kim, 2007; Hoeijmakers, 2009].

Oksidatif stres hücre döngüsünü etkileyerek, kontrolsüz hücre çoğalmasına ve sonuçta tümör oluşumuna neden olabilir [Van der Vliet ve Bast, 1992; Sun ve Oberley, 1996]. Kronik böbrek yetmezliğinde oksidatif stresin yan ürünleri, böbreğin fonksiyonu azaldığı için vücuttan atılamaz. Bu nedenle vücut devamlı olarak oksidatif strese maruz kalır [Galli ve ark., 1999; Kan, 2002]. Oksidatif stres iyon dengesini ve hücre içi haberleşmeyi de etkiler [Suzuki ve ark., 1997]. Sonuçta oksidatif stres hücre döngüsünü etkileyerek, hücre ölümüne sebep olur. Hücrede iki şekilde ölüm meydana gelir [Dyrbukt ve ark., 1994]. Kural olarak düşük şiddette ve uzun süreli oksidatif stres, apoptozise neden olurken; ani ve yoğun miktarda oksidatif stres, hücrede nekroza sebep olur [Gardner ve ark., 1997]. Apoptoziste hücre ölümü programlı olduğu için hücre programlandığı şekilde sorun yaratmadan fagosite edilerek ortamdaki alınır. Nekrozda hücre parçalanır ve hücre içi içerik ortama verilir. Bu maddeler o bölgede inflamasyona ve yeni reaktif oksijen türlerinin oluşmasına sebep olur [Fernandes ve Cotter, 1994; Gardner ve ark., 1997]. Bu olaylar bağışıklık sisteminin sürekli uyarılmasına sebep olur ve deneneratif hastalıklar (ateroskleroz) ve bazı kanserlerde oksidatif stresin rolü bu şekilde açıklanmıştır [Kan, 2002]. Birçok kanser dokusunda oksidasyonla değişikliğe uğratılmış DNA hasarının varlığı belirtilmiştir [Valko ve ark., 2001]. Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda yoğun bir şekilde oksidatif strese maruz kaldıkları için bu hastalarda kansere yakalanmasının ve artan ölümlerin sebebi bu şekilde açıklanabilir.

Bu çalışmada hemodiyalize giren kronik böbrek yetmezlikli hastalarda genetik hasarın varlığı tespit edilmiştir. Ancak; diyabetik ve diyabetik olmayan KBY'li hastalar arasında belirgin bir fark olmadığı gözlenmiştir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçları özetleyecek olursak;



- Bu çalışmada hastalarda ve sağlıklı bireylerde yapılan analizler sonucunda, hemodiyaliz tedavisi uygulanan kronik böbrek yetmezlikli hastalarda genetik hasarın arttığı tespit edilmiştir. Daha önce yapılmış çalışmalar ile birlikte bizim çalışmamızda ortaya çıkan bulgular ışığında, KBY hastalarında, genetik hasarının nedenleri olarak; hemodiyaliz tedavisinin kendisi, üremi, artmış ROS üretimi ve antioksidan eksikliği sayılabilir.
- Yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar gözlense de, genel olarak; bu çalışmanın sonuçları önceki çalışmaların sonuçları ile uyumludur. Fakat tedavideki değişiklikler, hastalığın mekanizmasındaki değişiklikler, çalışılan popülasyonlarda birey sayılarındaki değişiklikler, kullanılan testlerin ve hastaların diyaliz sürelerinin farklı olması, hastaların ikincil bir hastalığa sahip olmaları, çalışılan yaş aralığı ve yaşam stillerindeki farklılıklar v.b. faktörler çalışmalarda farklı sonuçların meydana gelmesinde önemli rol oynamaktadır. Çalışmamızda, uygulanan dört farklı genotoksisite testiyle de KBY'li hastaların lenfositlerinde genotoksik hasarın sağlıklı bireylere göre artmış olduğu tespit edilmiştir.
- Kronik böbrek yetmezliğine götüren en önemli etken olan diyabetin ise; çalışılan dört farklı genotoksisite testinde de genetik hasarı KBY'den bağımsız olarak önemli düzeyde etkilemediği belirlenmiştir.
- Fakat diyabetik hastalarda, replikasyon (Rİ) ve nükleer bölünme indekslerinde (NBI) diyabetik olmayan hastalara göre önemli düzeyde düşüş gözlenmiştir. Bu durum diyabetin hücre proliferasyonunu etkilediğini göstermektedir. Bununla birlikte, yaşı 50' nin üzerinde olan KBY hastalarının nükleer bölünme indeksinde önemli düzeyde düşüş belirlenmiştir. Buna göre; ileri yaşın hastalığın seyrini olumsuz etkileyerek hücre bölünmesi üzerinde etkili olduğu söylenebilir. Kanserli hastalarda nükleer bölünme indeksinde düşüş belirlemişlerdir [El-Zein ve ark., 2008; Ionescu ve ark., 2011]. Kanserli hastalarda mononükleat hücre frekansı kontrole göre yüksektir. Fakat binükleat ve trinükleat frekansının ise kontrol grubunda daha yüksek olduğu belirlenmiştir [El-Zein ve ark., 2008]. Bu çalışmada ise; hastalarda kontrole göre NBI'nin düştüğü, dolayısıyla mononükleat hücre

frekansının kontrole göre daha yüksek; binükleat ve trinükleat hücre frekanslarının ise daha düşük olduğu belirlenmiştir. Farelerde yapılan bir çalışmada, tümörlü hücrelerde replikasyon indeksinin normal hücrelere göre önemli oranda azaldığı belirtilmiştir. İkinci ve üçüncü bölünmelerin sayısı azalırken, birinci bölünmelerin sayısının arttığı tespit edilmiştir [Schneider ve ark., 1981].

- Ayrıca diyabetik hastaların mitotik indekslerinde de düşüş gözlenmiş, fakat bu düşüşün istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir. İnsan embriyo hücreleri yaklaşık 60-80 kez bölünebilmektedir. Yaşam süresi uzun canlıların hücrelerinin bölünme sayısı da oldukça yüksektir [Hayflick, 1991]. Bu durum göstermektedir ki, hastalarda yaş ile beraber mitotik indeks düşmektedir [Gökçe, 2012].
- Çalışmamızda, vücut kitle indeksi (VKİ)  $25 \text{ kg/m}^2$ 'den büyük olan hastaların comet kuyruk uzunluğu ve kuyruk momentinde, VKİ'si  $25 \text{ kg/m}^2$ 'den küçük hastalara göre istatistiksel olarak önemli oranda artmış olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar, diyabetik hastalarda artmış vücut kitle indeksinin kan glukoz seviyesini artırarak oksidatif DNA hasarına yol açtığını belirtmişlerdir [Al-Aubaidy ve ark., 2011]. Artmış vücut kitle indeksinin oksidatif stresi artırması genetik hasara yol açabilir.
- Ayrıca, parathormon (PTH) değeri  $300 \text{ pg/ml}$ 'den büyük olan hastaların comet kuyruk uzunluğu, PTH'sı  $300 \text{ pg/ml}$ 'den küçük olan hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı artmıştır. Bununla birlikte, PTH ile comet kuyruk uzunluğu arasında pozitif ve anlamlı korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Yüksek parathormon seviyesi D vitamini eksikliğiyle ilişkilendirilmektedir [Pepe ve ark., 2005; Reheem ve Fattah, 2013]. D vitamini seviyesindeki azalma, kanser insidansını artırmıştır [Tretli ve ark., 2009; Arends, 2011]. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda; kardiovasküler hastalıklar ve mortalite açısından yüksek risklerin, yüksek parathormon ve düşük D vitamininin seviyesiyle ilgili olduğu kanıtlanmıştır [Dobnig ve ark., 2008; Wang ve ark., 2008b; Melamed ve ark.,

2008; Deo ve ark., 2011]. Comet testi sonucumuz DNA hasarı ile PTH değeri arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktadır.

- Ferritin değeri 500 ng/ml'den büyük olan KBY hastalarda mitotik indeks önemli düzeyde düşmüştür. Depo demirinin göstergesi olan ferritin miktarının artmasıyla, serbest demirin dokulara girişi hızlanır ve serbest radikal oluşumu artar [Delmas-Beauvieux ve ark., 1995; Aydınok, 2007]. Ayrıca, Hartwig ve Schlepegrell (1995), demirin hücrelerde deformasyonlara neden olduğunu belirtmişlerdir. Serbest radikallerin artmasıyla oluşan genetik hasar ve hücrelerde meydana gelebilecek deformasyonlar, hücre bölünmesini engelleyerek mitotik indeksi azaltmış olabilir.

Diyabetik ve diyabetik olmayan kronik böbrek yetmezlikli hastalarının genotoksik etkileri hakkında *in vitro* insan periferik lenfositlerinde yapılmış pek fazla çalışma bulunmamaktadır. KBY hastalarda genotoksik hasarın değerlendirildiği bu çalışma sonuçlarına göre; hastalar hemodiyalize girmelerine rağmen kontrol grubuna göre daha fazla risk altındadırlar. Çalışmamızda, diyabetin ise daha çok hücre çoğalması üzerinde bir etkisi olduğu sonucuna varılmıştır. Hastalarda görülen genetik hasar; kronik böbrek yetmezliğine, hastalığın progresyonuna ve hemodiyaliz tedavi yöntemine ve tedavide kullanılan kimyasallara bağlı olabilir. Bu hasarı önlemek için, bu hastaların daha fazla gözetim altında tutulmalarının, erken tanı için risk grubundaki kişilerin sık aralıklarla kontrole gitmelerinin ve tedavilerinin düzenli takip edilmesinin uygun olacağı düşünülmektedir. Hemodiyaliz hastalarında mortalite oranlarının azaltılmasında oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin korunmasının yanı sıra; oksidatif stress kaynakları en aza indirgenmeye çalışılmalı ve antioksidan kapasiteyi arttırmak için çalışmalar yapılmalıdır.

Genotoksisite testleri kanserin erken göstergesi olarak değerlendirildiklerinden yaptığımız çalışmanın; ister diyabetik olsun ister olmasın KBY hastalarında kanserin normal popülasyona göre yaygın görülme nedenine de ışık tutacağı düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

Akoğlu, E., Süleymanlar G., “Kronik Böbrek Yetersizliği, Temel İç Hastalıkları”, *Güneş Kitapevi*, Ankara, 769-776 (1996).

Akpolat, T., Utaş, C., “Hemodiyaliz Hekimi El Kitabı”, *Anadolu Yayıncılık*, Kayseri (2001).

Akpolat, T., Tokgöz, B., “Hematolojik sorunlar ve eritropoietin kullanımı”, Hemodiyaliz El Kitabı, *Türk Nefroloji Derneği Yayınevi*, Konu 29, 200-216 (2000).

Akpolat, T., Utaş, C., Süleymanlar, G., “Nefroloji El Kitabı”, 3. Basım, *Nobel Tıp Kitabevi*, İstanbul, 328-329 (2002).

Al-Aubaidy, H.A., Jelinek, H.F., “Oxidative DNA damage and obesity in Type 2 diabetes mellitus”, *Eur. J. Endocrinol.*, 164(6): 899-904 (2011).

Al-Khoury, S., Afzali, B., Shah, N., Covic, A., Thomas, S., Goldsmith, D.J., “Anemia in diabetic patients with chronic kidney disease-prevalence and predictors”, *Diabetologia* 49:1183-9 (2006).

Altıparmak, M.R., “Hemodiyaliz Hastalarında Beslenme ve Malnütrisyon” Çeviri Editörleri, Arık, N., Ateş, K., Süleymanlar, G., Tonbul, Z., Türk, S., Yıldız, A., Hekimler İçin Hemodiyaliz Kaynak Kitabı, *Güneş Tıp Kitabevleri*, Ankara, Bölüm 17, 249-273 (2009).

Amore, A., Coppo, R., “Immunological basis of inflammation in dialysis”, *Nephrol Dial Transplant.*, 17 (8):16-24 (2002).

Andreassi, M.G., “DNA damage, vascular senescence and atherosclerosis”, *J. Mol Med.* 86: 1033–1043 (2008).

Andres, A. “Cancer incidence after immunosuppressive treatment following kidney transplantation”, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 56: 71-85 (2005).

Antolini, F., Valente, F., Ricciardi, D., Baroni, M., “Principal component analysis of some oxidative stress parameters and their relationships in hemodialytic and transplanted patients”, *Clin. Chim. Acta.*, 358 (1–2): 87-94 (2005).

Anwar, W.A., Salama, S.I., El Serafy, M.M., Hemida, S.A., Hafez, A.S., “Chromosomal aberrations and micronucleus frequency in nurses occupationally exposed to cytotoxic drugs”, *Mutagenesis*, 4: 315-317 (1994).

Arends, J., “Vitamin D in oncology”, *Forsch Komplementmed.*, 18(4): 176-184 (2011).

Arık, N., “Nefroloji Kitabı”, *Deniz Matbacılık*, İstanbul, 101-242 (2001).

Atlı-Şekeroğlu, Z.A., Şekeroğlu, V., “Genetik Toksikite Testleri”, *Tübbav Bilim Dergisi*, 4 (3): 221-229 (2011).

Aydınok, Y., “Talasemide demir yükü ve şelasyon, talasemi ve hemoglobinopatiler tanı ve tedavi”, “Talasemi ve hemoglobinopatiler”, ed. Canatan, D., Aydınok, Y., *Retma Matbaa Ltd.*, Antalya, 159-173 (2007).

Aykanat, B., “Çocuklarda Kronik Böbrek Hastalığı ve Böbrek Nakli Sonrası Genotoksik Hasarın Biyoizlenmesi”, Doktora Tezi, *Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Ankara 1-80 (2010).

Aykanat, B., Çakmak-Demircigil, G., Fidan, K., Buyan, N., Gülleroğlu, K., Baskın, E., Bayrakçı, U.S., Sepici, A., Büyükkaragöz, B., Karakayalı, H., Haberal, M., Burgaz, S., “Basal damage and oxidative DNA damage in children with chronic kidney disease measured by use of the comet assay”, *Mutat. Res.*, 725: 22–28 (2011).

Ayköse, G.M., “Kronik Böbrek Yetmezliği Nedeni İle Hemodiyaliz Tedavisi Gören Cinsel Disfonksiyonlu Erkeklerde Gonadal Fonksiyonların Ve Testosteron Replasman Tedavisinin Değerlendirilmesi”, Uzmanlık Tezi, *T.C. Sağlık Bakanlığı Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2. Üroloji Kliniği*, İstanbul (2006).

Babior, B.M., “Phagocytes and oxidative stres”, *Am. J. Med.*, 109(1): 33-44 (2000).

Bagatini, P.B., Palazzo, R.P., Rodrigues, M.T., Costa, C.H., Maluf, S.W., “Induction and removal of DNA damage in blood leukocytes of patients with type 2 diabetes mellitus undergoing hemodialysis”, *Mutat. Res.*, 657:111–115 (2008).

Bakris, G., “Recognition, pathogenesis, and treatment of different stages of nephropathy in patients with Type 2 diabetes mellitus”, *Mayo Clin. Proc.*, 86: 444-456 (2011).

Bang, H., Vupputuri, S, Shoham, D.A., Klemmer, P.J., Falk, R.J., Mazumdar, M., Gipson, D., Colindres, R.E., Kshirsagar, A.V., “SCreening for Occult RENal Disease (SCORED): a simple prediction model for chronic kidney disease”, *Arch. Intern. Med.*, 167: 374–81 (2007).

Barsoum, R.S., “Chronic kidney disease in the developing world”. *N. Engl. J. Med.* 354: 997–999 (2006).

Bassuk, S.S., Manson, J.E., “Does vitamin D protect against cardiovascular disease?” *J. Cardiovasc. Transl. Res.*, 2: 245–250 (2009).

Başçı, A., “Böbrek Transplantasyonunda Hasta Seçimi ve Hazırlığı” Çeviri Editörleri, Arık, N., Ateş, K., Süleymanlar, G., Tonbul, Z., Türk, S., Yıldız, A.,

Hekimler İçin Hemodiyaliz Kaynak Kitabı, *Güneş Tıp Kitabevleri*, Ankara, Bölüm 32, 449-458 (2009).

Bayer, W., “Vitamin D und Krebs”. *Dt Zeitschr Onkologie.*, 41: 106-111 (2011).

Behrend, L., Henderson, G., Zwacka, R.M. “Reactive oxygen species in oncogenic transformation,” *Biochem. Soc. Trans.*, 31 (6): 1441–1444 (2003).

Bedir, A., Bilgici, B., Yurdakul, Z., Gürsel, B.Ş., Alvur, M., “DNA hasarı analizinde  $\mu$ -FADU ve Comet yöntemlerinin karşılaştırılması”, *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 2 (3): 97-103 (2004).

Bender, M.A., Awa, A.A., Brooks, A.I., Evams, H.J., Groer, P.G., Littlefield, L.G., Pereira, C., Preston, R.J., Wachholz, B.W., “Current status of cytogenetic procedures to detect and quantify previous exposures to radiation”, *Mutat. Res.*, 196 (2): 103-59 (1988).

Bender, M.A., Preston, R.J., Leonard, R.C., Pyatt, B.E., Gooch, P.C., “Chromosomal aberration and sister-chromatid exchange frequencies in peripheral blood lymphocytes of a large human population sample II. Extension of age range” *Mutat Res-Fund Mol M.*, 212 (2): 149–154 (1989).

Ben-Zvi, I., Green, Y., Nakhoul, F., Kanter, Y., Nagler, R.M., “Effects of diabetes mellitus, chronic renal failure and hemodialysis on serum and salivary antioxidant status”, *Nephron. Clin. Pract.*, 105:114–120 (2007).

Berg, D., Gerlach, M., Youdim, M.B., Double, K.L., Zecca, L., Riederer, P., Becker G., “Brain iron pathways and their relevanceto Parkinson’s disease”, *J. Neurochem.*, 79: 225-236 (2001).

Birben, E., Şahiner, Ü.M., Sackesen, C., Erzurum, S., Kalayci, Ö., “Oxidative Stress and Antioxidant Defense” *WAO Journal*, 5: 9-19 (2012).

Bocker, W., Bauch, T., Müller, WU., Streffer, C., “Image analysis of comet assay measurements”. *Int. J. Radiat. Biol.*, 72: 449–60 (1997).

Bolognesi, C., “Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies”, *Mutat Res.*, 543(3): 251-272 (2003).

Bonassi, S., Znaor, A., Ceppi, M., Lando, C., Chang, W.P., Holland, N., Kirsch-Volders, M., Zeiger, E., Ban, S., Barale, L., Bigatti, M.P., Bolognesi, C., Cebulska-Wasilewska, A., Fabianova, E., Fucic, A., Hagmar, L., Joksic, G., Martelli, A., Migliore, L., Mirkova, E., Scarfi, M.R., Zijno, A., Norppa, H., Fenech, M., “An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans”, *Carcinogenesis*, 28: 625–631 (2007).

Bont R., De, Larebeke N., van, “Endogenous DNA damage in humans: a review of quantitative data”, *Mutagenesis*, 19: 169-85 (2004).

Bozkurt, G., Abay, E., Ateş, İ., Karaboğaz, G., Türe, M., Savran, F.O., Palandüz, S., Temocin, K., Algüneş, Ç., “Clastogenicity of selective serotonin-reuptake inhibitors”, *Mutat. Res.*, 558: 137-144 (2004).

Buemi, M., Floccari, F., Costa, C., Caccamo, C., Belghity, N., Campo, S., Pernice, F., Bonvissuto, G., Coppolino, G., Barillà, A., Criseo, M., Crascì, E., Nostro, L., Arena, A., “Dialysis-Related Genotoxicity: Sister Chromatid Exchanges and DNA Lesions in T and B Lymphocytes of Uremic Patients/ Genomic Damage in Patients on Hemodiafiltration” *Blood Purif.*, 24:569–574 (2006) DOI: 10.1159/000097080.

Cachofeiro, V., Goicochea, M., de Vinuesa, S.G., Oubina, P., Lahera, V., Luno, J. “Oxidative stress and inflammation, a link between chronic kidney disease and cardiovascular disease”, *Kidney Int. Suppl.* 74: 4–9 (2008).

Canaud, B., Cristol, J., Morena, M., Leray-Moragues, H., Bosc, J., Vaussenat, F., “Imbalance of oxidants and antioxidants in haemodialysis patients”, *Blood Purif.*, 17 (2-3): 99-106 (1999).

Cannata, D., Fierz, Y., Vijayakumar, A., “Type 2 diabetes and cancer: what is the connection?”, *Mt Sinai J. Med.*, 77:197–213 (2010).

Carbonell, E., Petis, F., Xamena, N., Creus, A., and Marcos, R., “SCE analysis in human lymphocytes of a Spanish control population”, *Mutat. Res.*, 335: 35-46 (1995).

Cavallo, D., Ursini, C. L., Perniconi, B., Francesco, A., Giglio, M., Rubino, F.M., Marinaccio, A., Iavicoli, S., “Evaluation of genotoxic effects induced by exposure to antineoplastic drugs in lymphocytes and exfoliated buccal cells of oncology nurses and pharmacy employees”, *Mutat. Res.*, 587: 45-51 (2005).

Ceballos-Picot, I., Witko-Sarsat, V., Merad-Boudia, M., Nguyen, A.T., Thévenin, M., Jaudon, M.C., Zingraff, J., Verger, C., Jungers, P., Descamps-Latscha, B., “Glutathione antioxidant system as a marker of oxidative stress in chronic renal failure”, *Free Radic. Biol. Med.*, 21: 845–853 (1996).

Cengiz, K., Block, A.M., Hossfeld, D.K., Anthone, R., Anthone, S., Sandberg, A.A., “Sister chromatid exchange and chromosome abnormalities in uremic patients”, *Cancer Genet. Cytogenet.*, 36(1): 55-67 (1988).

Cervantes-Ríos, E., Ortiz-Muniz, R., Martínez-Hernández, A.L., Cabrera-Rojo, L., Graniel-Guerrero, J., Rodríguez-Cruz, L., “Malnutrition and infection influence the peripheral blood reticulocyte micronuclei frequency in children”, *Mutat. Res.*, 731: 68-74 (2012).

Champe, P.C., Harvey, R.A., “Açlık, Diabetes Mellitus ve Yaralanmada Metabolizma” Çeviri Editörleri, Tokullugil, A., Dirican, M., Ulukaya, E., “Biyokimya Lippincott’s Illustrated reviews serisinden” 2.baskı, **Nobel Tıp Kitabevi**, İstanbul, Bölüm 26, 291-302 (1997).

Chaturvedi, N., Fuller, J.H., “Glycosylated hemoglobin and the risk of microalbuminuria in insulin-dependent diabetes mellitus”, EURODIAB IDDM Complications Study Group, **N. Engl. J. Med.**, 333: 940–941 (1995).

Chiarello, P.G., Vannucchi, M.T., Moyses, N.M., Vannucchi, H., “Hyperhomocysteinemia and oxidative stress in hemodialysis: effects of supplementation with folic acid”, **Int. J. Vitam. Nutr. Res.**, 73(6): 431-438 (2003).

Cho, K.H., Kim, H.J., Rodriguez-Iturbe, B., Vaziri, N.D., “Niacin ameliorates oxidative stress, inflammation, proteinuria, and hypertension in rats with chronic renal failure”, **Am. J. Physiol. Renal Physiol**, 297: 106–113 (2009).

Chuang, C.H., Hu, M.L., “Use of whole blood directly for single-cell gel electrophoresis (comet) assay in vivo and white blood cells for in vitro assay”, **Mutat. Res.**, 564:75-82 (2004).

Cinkılıç, N., Kiyici, S., Çelikler, S., Tuncel, E., Vatana, Ö., Gül, O.O., Bilaloğlu, R., “Evaluation of chromosome aberrations, sister chromatid exchange and micronuclei in patients with type-1 diabetes mellitus”, **Mutat. Res.**, 676: 1–4 (2009).

Collins, A.R., “The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations”, **Mol Biotechnol.**, 26: 249–261 (2004).

Cortes, F., Pastor, N., “Induction of endoreduplication by topoisomerase II catalytic inhibitors”, **Mutagenesis**, 18(2): 105-112 (2003).

Crowe, E., D. Halpin, Stevens, P. “Early identification and management of chronic kidney disease: summary of NICE guidance”, **Brit. Med. J.**, 337: 1530 (2008).

Çakmak, G., “Trafik Polisi ve taksi sürücülerini hava kirliliği maruziyetine yönelik idrarda 1-hidroksipiren değerlerinin, periferal lenfositlerde kromozomal aberasyon ve MÇ sıklığının araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, **Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, 28-107 (2000).

Çamsarı, T., Çavdar, C., “Hemodiyaliz Temel İlkeleri, Araç ve Gereçleri” Hekimler İçin Hemodiyaliz Kaynak Kitabı, ed. Arık, N., Ateş, K., Süleymanlar, G., Tonbul, Z., Türk, S., Yıldız, A., **Güneş Tıp Kitabevleri**, Bölüm 3, 31-47 (2009).

Çavdar, C., Çelik, A., “Kronik böbrek yetmezliği hastalarında eritropoietin ve demir tedavisi: İzmir ili konsensüs raporu”, **Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi**, 3:121-128 (1998).



Çelik, M., “Dinocap fungusinin *Allium cepa* L. Kök ucu hücreleri ve insan periferik lenfositlerinde sitogenetik etkileri”, Doktora Tezi, **Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, 1-102 (2003).

Çelik, M., Ünal, F., Yüzbaşıoğlu, D., Ergün, M.A., Arslan, O., Kasap, R., “*In vitro* effects of karathane LC (dinocap) on human lymphocytes”, **Mutagenesis**, 20(2): 101-104 (2004).

Çinkır, Ü., “Diyabetik Nefropatili Hastalarda Vitamin D Tedavisinin Proteinüri Üzerine Etkisi”, Uzmanlık Tezi, **T.C. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı**, Adana (2011).

Daugirdas, J.T., Blake, P.G., Ing, T.S., “Diyaliz El Kitabı”, ed. Bozfakioğlu, S., Ankara, **Güneş Kitapevi** (2003).

David, M.W., Thompson, L.R., “Molecular mechanisms of sister-chromatid exchange”, **Mutat. Res.**, 616: 11-23 (2007).

Dean, R.T., Fu, S., Stocker, R., Davies, M.J., “Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation”, **Biochem J.**, 324:1-18 (1997).

Delmas-Beauvieux, M.C., Peuchant, E., Dumon, M.F., Receveur, M.C., Le Bras, M., Clerc, M., “Relationship between red blood cell antioxidant enzymatic system status and lipoperoxidation during the acute phase of malaria”, **Clin Biochem.**, 28:163-169 (1995).

Demircigil, Ç. G., Aykanat, B., Fidan, K., Gülleroğlu, K., Bayrakçı, S. U., Sepici, A., Büyükkaragöz, B., Karakayalı, H., Haberal, M., Baskın, E., Buyan, N., Burgaz, S., “Micronucleus in peripheral blood lymphocytes of children with chronic kidney disease” **Mutagenesis**, 26 (5): 643–650 (2011).

Deo, R., Katz, R., Shlipak, M.G., Sotoodehnia, N., Psaty, B.M., Sarnak, M.J., Fried, L.F., Chonchol, M., Boer, de I.H., Enquobahrie, D., Siscovick, D., Kestenbaum, B., “Vitamin D, Parathyroid Hormone, and Sudden Cardiac Death Results From the Cardiovascular Health Study”, **Hypertension**, 58: 1021-1028 (2011).

Deray, G., Heurtier, A., Grimaldi, A., Launay, V.V., Isnard, B.C., “Anaemia and diabetes”, **Am J. Nephrol.**, 24(5):522-526 (2004).

Descamps-Latscha, B., Witko-Sarsat, V., “Importance of oxidatively modified proteins in chronic renal failure”, **Kidney Int.**, 59 (78): S108-S113 (2001).

Descamps-Latscha, B., Herbelin, A., Nguyen, AT., Zingraf, J., Jungers, P., Chatenoud, L., “The immune system dysregulation in uremia”, **Semin. Nephrol.**, 14: 253–256 (1994).

Doak, S.H., Liu, Y., Chen, C., “Genotoxicity and cancer”, *Adverse Effects of Engineered Nanomaterials*, 14: 243-261 (2012).

Dobnig, H., Pilz, S., Scharnagl, H., Renner, W., Seelhorst, U., Wellnitz, B., Kinkeldi, J., Boehm, B.O., Weihrauch, G., Maerz, W., “Independent association of low serum 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D levels with all-cause and cardiovascular mortality”, *Arch. Intern. Med.*, 168: 1340-1349 (2008).

Domenici, FA., Vannucchi, MT., Jordão, AA. Jr, Meirelles, MS., Vannucchi, H. “DNA oxidative damage in patients with dialysis treatment”, *Ren. Fail.*, 27 (6): 689–694 (2005).

Dounousi, E., Papavasiliou, E., Makedou, A., Ioannou, K., Katopodis, K.P., Tselepis, A., Siamopoulos, K.C., Tsakiris, D., “Oxidative stress is progressively enhanced with advancing stages of CKD”, *Am J. Kidney Dis.*, 48: 752–760 (2006).

Duong, U., Mehrotra, R., Molnar, M.Z., Noori, N., Kovesdy, C.P., Nissenson, A.R., Kalantar-Zadeh, K., “Glycemic Control And Survival in Peritoneal Dialysis Patients With Diabetes Mellitus” *Clin. J. Am Soc. Nephrol.*, 6: 1041-1048 (2011).

Dursun, E., Dursun, B., Süleymanlar, G., Özben, T., “Effect of haemodialysis on the oxidative stress and antioxidants in diabetes mellitus”, *Acta Diabetol.*, 42: 123–128 (2005).

Dyrbukt, J.M., Ankarcrona, M., Burkitt, M., Sjöholm, A., Strom, K., Orrenius, S., Nicotera, P., “Different prooxidant levels stimulate growth trigger apoptosis or produce necrosis of insulin secreting RINm5F cells”, *J. Biol. Chem.*, 269: 30553-30560 (1994).

Eastmond, D.A., Tucker, J.D., “Kinetochore localization in micronucleated cytokinesis-blocked Chinese hamster ovary cells: a new and rapid assay for identifying aneuploidy-inducing agents”, *Mutat. Res.*, 224:517–525 (1989).

El-Zein, R.A., Fenech, M., Lopez, M.S. “Cytokinesis-Blocked Micronucleus Cytome Assay biomarkers identify lung cancer cases amongst smokers. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 17:1111-1119 (2008).

Eroğlu, Y., Eroğlu, H. E., İlbas, A.I., “Gamma ray reduces mitotik index in embriyonic roots of *Hordeum vulgare* L”, *Adv. Biol. Res.*, 1: 26-28 (2007).

Ersson, C., Thorman, R., Rodhe, Y., Möller, L., Hylander, B., “DNA damage in salivary gland tissue in patients with chronic kidney disease, measured by the comet assay”, *Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol. Endod.*, 112:209–215 (2011).

Ersson, C., Möller, L., “The effects on DNA migration of altering parameters in the comet assay protocol such as agarose density, electrophoresis conditions and

durations of the enzyme or the alkaline treatments”, *Mutagenesis*, 26 (6): 689–695 (2011).

Ersson, C., Odar-Cederlöf, I., Fehrman-Ekholm, I., Möller, L., “The effects of hemodialysis treatment on the level of DNA strand breaks and oxidative DNA lesions measured by the comet assay”, *Hemodial. Int.*, DOI:10.1111/hdi.12008 (2012).

Evans, H.J., In Kilbey, B.J., Legator, M., Nichols, W., Ramel, C., “Human peripheral blood lymphocytes for the analysis of chromosome aberrations in mutagen tests”, *Handbook of Mutagenicity Test Procedures*, 2nd, *Elsevier Sciences*, Amsterdam, 405–427 (1984).

Fairbairn, D.W., Walburger, D.K., Fairbairn, J.J., O’Neill, K.L., “Key morphologic changes and DNA strand breaks in human lymphoid cells: discriminating apoptosis from necrosis”, *Scanning*, 18: 407–416 (1996).

Fairbairn, D.W., Olive, P.L., O’Neill, K.L., “The comet assay: a comprehensive review”, *Mutat. Res.*, 339 (1): 37–59 (1995).

Farghaly, A.A., Hassan, Z.M., Donya, S.M., “Ameliorative potential of Myristica fragrans extract as hypoglycemic agent on oxidative stress produced by diabetes mellitus in mice” *J. Am. Sci.*, 8(1) 2012.

Fenech, M., “Cytokinesis-block micronucleus cytome assay”, *Nat. Protoc.*, 2(5): 1084-1104 (2007).

Fenech, M., “The in vitro micronucleus technique”, *Mutat. Res.*, 455 (1-2): 81-95 (2000).

Fenech, M., Chang, W.P., Kirsch-Volders, M., Holland, N., Bonassi, S., Zeiger, E., “Human Micronucleus project. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures”, *Mutat. Res.*, 534(1-2): 65-75 (2003).

Ferguson, LR., Philpott, M., Karunasinghe, N., “Dietary cancer and prevention using antimutagens”, *Toxicology* 198:147–159 (2004).

Fernandes, RS., Cotter, TG., “Apoptosis or necrosis: Intracellular levels of glutathione influence mode of cell death”, *Biochem. Pharmacol.*, 48: 675-681 (1994).

Fink, K., Brink, A., Vienken, J., Heidland, A., Stopper, H., “Homocysteine exerts genotoxic and antioxidative effects *in vitro*”, *Toxicol In Vitro*, 21: 1402–1408 (2007).

Fleet, J.C., “Molecular actions of vitamin D contributing to cancer prevention”, *Mol. Aspects Med.*, 29: 388–396 (2008).

Floccari, F., Aloisi, C., Crascì, E., Sofi, T., Campo, S., Tripodo, D., Criseo, M., Frisina, N., Buemi, M., “Oxidative stress and uremia”, *Med. Res. Rev.*, 25: 473–486 (2005).

Forman, J.P., Giovannucci, E., Holmes, M.D., Bischoff-Ferrari, H.A., Tworoger, S.S., Willett, W.C., Curhan, G.C., “Plasma 25-hydroxyvitamin D levels and risk of incident hypertension”, *Hypertension*, 49: 1063–1069 (2007).

Foster, MC., Hwang, S-J., Larson, MG., Parikh, NI., Meigs, JB., Vasani, RS., Wang, TJ., Levy, D., Fox, CS., “Cross-classification of microalbuminuria and reduced glomerular filtration rate: associations between cardiovascular disease risk factors and clinical outcomes”, *Arch. Intern. Med.*, 167 (13): 1386–1392 (2007).

Fox, CS., Larson, MG., Leip, EP., Culeton, B., Wilson, PW., Levy, D., “Predictors of new-onset kidney disease in a community-based population”. *J. Am Med. Assoc.*, 291: 844–850 (2004).

Fragedaki, E., Nebel, M., Schupp, N., Sebekova, K., Völkel, W., Klassen, A., Pischetsrieder, M., Frischmann, M., Niwa, T., Vienken, J., Heidland, A., Stopper, H. “Genomic damage and circulating AGE levels in patients undergoing daily versus standard haemodialysis”. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 20 (9): 1936–1943 (2005).

Gaede, P., Vedel, P., Larsen, N., Jensen, G.V., Parving, H.H., Pedersen, O., “Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes”, *N. Engl. J. Med.* 348: 383–393 (2003).

Gansevoort, R.T., Correa-Rotter, R., Hemmelgarn, B.R., Jafar, T.H., H.J.L., Heerspink, Mann, J.F., Matsushita, K., Wen, C.P., “Chronic kidney disease and cardiovascular risk: epidemiology, mechanisms, and prevention” *Lancet*, 382: 339–352 (2013).

Gao, X., Campian, J.L., Qian, M., Sun, X.F., Eaton, J.W., “Mitochondrial DNA damage in iron overload”, *J. Biol. Chem.*, 284: 4767–4775 (2009).

Galli, F., Rovidati, S., Bebedetti, S., Canestrari, F., Ferraro, B., Floridi, A., Buoncristiani, u., “Lipid peroxidation, leucocyte function and apoptosis in HD patients treated with vitamin E-modified filters”. *Contrib. Nephrol.*, 127: 156–171 (1999).

Gardner, AM., XU, F., Fady, C., Jacoby, FJ., Duffey, DC., TU, Y., Lichteinstein, A., “Apoptotic vs nonapoptotic cytotoxicity induced by hydrogen peroxide”, *Free Radical Biology Med.*, 22: 73–83 (1997).

Gastaldello, K., Husson, C., Wens, R., Vanherweghem, J-L., Tielemans, C., “Role of complement and platelet-activating factor in the stimulation of phagocytosis and

reactive oxygen species production during hemodialysis”, *Nephrol. Dial. Transplant.*, 15: 1638–1646 (2000).

Ghazalla, M.B., Mutch, Elaine., Aburawi, S., Williams, F.M., “Genotoxic effect induced by hydrogen peroxide in human hepatoma cells using comet assay”, *Libyan J. Med.*, 5: 1-6 (2010).

Giray, B., Kan, E., Bali, M., Hincal, F. The effect of vitamin E supplementation on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in hemodialysis patients, *Clin. Chim. Acta.*, 338: (1–2) 91–98 (2003).

Go, AS., Chertow, GM., Fan, D., McCulloch, CE., Hsu, C-Y., “Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization”, *N. Engl. J. Med.*, 351: 1296–1305 (2004).

González Rico, M., Puchades, M. J., García Ramón, R., Sáez, G., Tormos, M.C., Miguel, A., “Effect of hemodialysis therapy on oxidative stress in patients with chronic renal failure”, *Nefrología*, 26: 2 (2006).

Goh, K.O., Cestero, RVM., “Chromosomal abnormalities in maintenance hemodialysis patients”, *J. Med.*, 10:167-174 (1979).

Goodwin, P.J., Ennis, M., Pritchard, K.I., Koo, J., Hood, N., “Prognostic effects of 25-hydroxyvitamin D levels in early breast cancer”, *J. Clin. Oncol.*, 27: 3757–3763 (2009).

Gökçe, H. “Akdeniz Anemili (Beta Talasemi Majorlu) Hastaların Periferik Lenfositlerindeki Genetik Değişikliklerin Genotoksisite Testleriyle Belirlenmesi” Doktora Tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara (2012).

Grooteman, M.P., Nuhe, M.J., Van Limbeek, J., Schoorl, M., vanHoute, A.J., “Lymphocyte subsets in dialyser eluates: A new parameter of bioincompatibility?” *Nephrol. Dial. Transplant.*, 11: 1073–1078 (1996).

Groothoff, J., “Long-term outcomes of children with end-stage renal disease”, *Pediatr. Nephrol.*, 20 (7): 849–853 (2005).

Güngör, Ö., Yılmaz, M.İ., Töz, H., “A Novel Player in Atherosclerotic Diseases in Renal Patients: Tumor Necrosis Factor-like Weak Inducer of Apoptosis (TWEAK)”, *Turk Neph. Dial. Transpl.*, 22 (3): 235-237 (2013).

Güvener, N., “Diabetes Mellitus”, Cecil Textbook of Medicine, 22. baskı, ed. Ünal, S., *Güneş Kitabevi Ltd.*, 1425-1437 (2006).

Hagmar, L., Bonassi, S., Stromberg, U., Brogger, A., Knudsen, L.E., Norppa, H., Reuterwall, C., “Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer: a

report from the European study group on cytogenetic biomarkers and health (ESCH)", *Cancer Res.*, 58 (18): 4117-4121 (1998).

Hakim, R.M, Breyer, J., Ismail, N., Schulman, G., "Effects dose of dialysis on morbidity and mortality", *Am J. Kidney Dis.*, 23:661-69 (1994).

Haroun, MK., Jaar, BG., Hoffman, SC., Comstock, GW., Klag, MJ., Coresh, J., "Risk factors for chronic kidney disease: a prospective study of 23,534 men and women in Washington County, Maryland"., *J. Am Soc. Nephrol.*, 14: 2934–2341 (2003).

Hartwig, A., Schlepegrell, R., " Induction of oxidative DNA damage by ferric iron in mammalian cells", *Carcinogenesis*, 16 (12): 3009-3013 (1995).

Hayflick, L., "Aging under glass", *Mutat Res.*, 256: 69-80 (1991).

Heidland, A., Banner, U., Vamvakas, S., "Incidence and spectrum of dialysis-associated cancer in three continents", *Am J. Kidney Dis.*, 35: 347-351 (2000).

Heinzelmann, M., Mercer-Jones, MA., Passmore, JC., "Neutrophils and renal failure", *Am J. Kidney Dis.*, 34:384-399 (1999).

Herbert, K.E., Mistry, Y., Hastings, R., Poolman, T., Niklason, L., Williams, B. "Angiotensin II-mediated oxidative DNA damage accelerates cellular senescence in cultured human vascular smooth muscle cells via telomere-dependent and independent pathways", *Circ. Res.*, 102: 201-208 (2008).

Herman, M., Ori, Y., Chagnac, A., et al. "Spontaneous DNA repair increases during hemodialysis",. *Nephron Clin. Pract.*, 108:188–193 (2008).

Hidalgo, A., Gonzalez-Reyes, J.A., Navas, P., Garcia-Herdugo, G., "Abnormal mitosis and growth inhibition in *Allium cepa* roots induced by prophan and chlorprophan", *Cytobios*, 57: 7-14 (1989).

Himmelfarb, J., McMenamin, ME., Loseto, G., Heinecke, JW., "Myeloperoxidase-catalyzed 3-chlorotyrosine formation in dialysis patients", *Free Radic. Biol. Med.*, 31:1163–1169 (2001).

Himmelfarb, J., "Uremic Toxicity, Oxidative Stress, and Hemodialysis as Renal Replacement Therapy", *Semin Dial.*, 22 (6): 636–643 (2009).

Himmelfarb, J., Ault, K.A., Holbrook, D., LEEBER, D.A. Hakim, R.M., "Intradialytic granulocyte reactive oxygen species production: A prospective, crossover trial", *J. Am Soc. Nephrol.*, 4: 178-186 (1993).

Himmelfarb, J., Monagle, Mc. E., "Albumin is the major plasma protein target of oxidant stres in uremia", *Kidney Int.*, 60: 358-363 (2001).

Hininger, I., Namy, A.C.; Sauvaigo, S., Osman, M., Faure, H., Cadet, J., Favier, A., Roussel, A.M., “Assesment of DNA damage by comet assay on frozen total blood: method and evaluation in smokers and non-smokers”, *Mutat. Res.*, 558: 75-80 (2004).

Hoeijmakers, Jan, H.J. “Molecular Origins of Cancer DNA Damage, Aging, and Cancer”, *N. Engl J. Med.*, 361:1475-85 (2009).

Hofer, T., Karlsson, H.L., Moller, L., “DNA oxidative damage and strand breaks in young healthy individuals: a gender difference and the role of life style factors”, *Free Radical. Res.*, 40: 707–714 (2006).

Holick, M.F., Binkley, N.C., Bischoff-Ferrari, H.A., Gordon, C.M., Hanley, D.A., Heaney, R.P., Murad, M.H., Weaver, C.M., “Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline”, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 96: 1911-1930 (2011).

Holick, M.F., “Vitamin D deficiency”, *N. Engl. J. Med.*, 357: 266–281 (2007).

Hornberger, J.C., “The hemodialysis prescription and quality adjusted life expentancy”, *J. Am Soc. Nephrol.*, 4:1004-1020 (1993).

Humphreys, V., Martin, R.M., Ratcliffe, B., Duthie, S., Wood, S., Gunnell, D., Collins, A.R., “Age-related increases in DNA repair and antioxidant protection: A comparison of the Boyd Orr Cohort of elderly subjects with a younger population sample”, *Age Ageing.*, 36:521–526 (2007).

Hwang, E.S., Kim, G.H., “Biomarkers for oxidative stress status of DNA, lipids, and proteins in vitro and in vivo cancer research”, *Toxicology*, 229: 1–10 (2007).

Imlay, JA., Linn, S., “DNA damage and oxygen radical toxicity”, *Science*, 240:1302-1309 (1988).

Ionescu, M.E., Ciocirlan, M., Becheanu; G., Nicolaie, T., Ditescu; C., Teiusanu; A.,G., Gologan; S.I., Arbanas, T., “Nuclear Division Index may Predict Neoplastic Colorectal Lesions” *Maedica (Buchar)*, 6 (3): 173-178 (2011).

Islam, KN., O’Byrne, D., Devaraj, S., Palmer, B., Grundy, S.M., Jialal, I., “Alphatocopherol supplementation decreases the oxidative susceptibility of LDL in renal failure patients on dialysis therapy”, *Atherosclerosis*, 150:217-224 (2000).

İnternet: Türk Nefroloji Derneği, “Merkezden Gelen Bilgiler” <http://www.tsn.org.tr> (2011).

İnternet: Türk Nefroloji Derneği, “Merkezden Gelen Bilgiler” <http://www.tsn.org.tr/index.php?cat=29> (2012).

Jackson, P., Loughrey, C.M., Lightbody, J.H., McNamee, P.T., Young, I.S., “Effect of hemodialysis on total antioxidant capacity and serum antioxidants in patients with chronic renal failure”, *Clin. Chem.*, 41: 1135–1138 (1995).

Jain, A.K., Andsorbhoy, R.K., “Cytogenetical studies on the effects of some chlorinated pesticides”, *Cytologia*, 53: 427-436 (1988).

James, M.T., Hemmelgarn, B.R., Tonelli, M., “Early recognition and prevention of chronic kidney disease”, *Lancet.*, 375: 1296–309 (2010).

Jones, G. “Expanding role for vitamin D in chronic kidney disease: importance of blood 25-OH-D levels and extra-renal 1 $\alpha$ -hydroxylase in the classical and nonclassical actions of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>”, *Semin. Dial.*, 20: 316-324 (2007).

Kalousova, M., Zima, T., Tesar, V., Sulkova, S., Fialov, L., “Relationship Between Advanced Glycoxidation End Products, Inflammatory Markers/Acute-Phase Reactants, And Some Autoantibodies In Chronic Hemodialysis Patients”, *Kidney Int. Suppl.*, 84: 62-64 (2003).

Kan, E., Undeger, U., Bali, M. Başaran, N., “Assessment of DNA strand breakage by the alkaline Comet assay in dialysis patients and the role of vitamin E supplementation”, *Mutat. Res.*, 520 (1–2): 151–159 (2002).

Kao, M.P.; Ang, D.S.; Pall, A.; Struthers, A.D., “Oxidative stress in renal dysfunction: mechanisms, clinical sequelae and therapeutic options”, *J. Hum. Hypertens.*, 24, 1–8 (2010).

Kato, A., Odamaki, M., Hishida, A., “Blood 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine is associated with erythropoietin resistance in haemodialysis patients”, *Nephrol. Dial. Transplant.*, 18: 931–936 (2003).

Kato, A., Odamaki, M., Hishida, A., “Blood 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine is associated with erythropoietin resistance in haemodialysis patients”, *Nephrol. Dial. Transplant.*, 18: 931–936 (2003).

Kato, Y., Mori, Y., Makino, Y., Morimitsu, Y., Hiroi, S., Ishikawa, T. et al., “Formation of N<sup>ε</sup>-(hexanonyl)lysine in protein exposed to lipid hydroperoxide. A plausible marker for lipid hydroperoxidederived protein modification”, *J. Biol. Chem.*, 274: 20406-20414 (1999).

Kirkland, D., “Evaluation of different cytotoxic and cytostatic measures for the in vitro micronucleus test (MNvit): summary of results in the collaborative trial”, *Mutat. Res.*, 702: 139-147 (2010).

Kirsch-Volders, M., Gina, P., Elhajouji, A., Lukamowicz, M., Gonzalez, L., Looek, K.V., Decordier, I., “The in vitro MN assay in 2011: origin and fate, biological



significance, protocols, high throughput methodologies and toxicological relevance”, *Arch. Toxicol.*, 85 (8): 873-899 (2011).

Kirsch-Volders, M., Sofuni, T., Aardemac, M., Albertini, S., Eastmond, D., Fenech, M., Ishidate, J.R.M., Kirchner, S., Lorge, E., Morita, T., Norppa, H., Surralles, J., Vanhauwaert, A., Wakata, A., “Report from the in vitro micronucleus assay working”, *Mutat. Res.*, 540: 153-163 (2003).

Kitiyakara, C., Gonin, J., Massy, Z., Wilcox, CS., “Non-traditional cardiovascular disease risk factors in end-stage renal disease: oxidative stress and hyperhomocysteinemia”, *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 9: 477-487 (2000).

Kobras, K., Schupp, N., Nehrlich, K., Adelhardt, M., Bahner, U., Vienken, J., Heidland, A., Sebekova, K. and Stopper, H. “Relation between different treatment modalities and genomic damage of end-stage renal failure patients”, *Kidney Blood Press. Res.*, 29: 10–17 (2006).

Konopacka, M., Widel, M., Rzeszowska-Wolny, J., “Modifying effect of vitamins C, E and beta-carotene against gamma-ray-induced DNA damage in Mouse cells”, *Mutat. Res.*, 417 (2–3):85-94 (1998).

Köken, T., Serteser, M., Kahraman, A., Gökçe Ç., “Oxidative stress markers in hepatitis C infected hemodialysis patients”, *J. Nephrol.*, 15:302-307 (2002a).

Köken, T., Serteser, M., Kahraman, A., Çetinkaya, G., “Sigaranın hemodiyaliz hastalarında oksidatif stres üzerine etkisi”, *Turk Neph. Dial. Transpl.*, 11(2): 121-124 (2002b).

Köken, T., Kahraman, A., Serteser, M., Gökçe, Ç., “Hemodiyaliz ve oksidatif stres”, *Kocatepe Tıp Dergisi*, 5: 9-13 (2004).

Köksal, G., Gökmen, H., “Çocuk Hastalıklarında Beslenme Tedavisi”, *Hatipoğlu Yayınları*, Bölüm 14 (2000).

Kryston, T.B., Georgiev, A.B., Pissis, P., Georgakilas, A.G., “Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis”, *Mutat. Res.*, 711:193-201 (2011).

Kumar, J.V., Saraswathi, T.R., Ranganathan, K., Umadevi, K.M., Joshua, E., Rooban, T. “Sister chromatid exchanges in smokers and smokers with alcohol habit” *J. Oral Maxillofac Pathol.*, 16 (3): 338-342 (2012).

Kumaravel, T.S., Vilhar, B., Faux, S.P., Jha, A.N., “Comet assay measurement: a perspective”, *Cell Biol. Toxicol.*, 25: 53-64 (2009).

Li, H., Mitchell, J.R., Hasty, P., “DNA double-strand breaks: a potential causative factor for mammalian aging?” *Mech. Ageing Dev.*, 129: 416–424 (2008).

Lazutka, J.R., Dedonyte, V., Krapavickaite, D., “Sister-chromatid exchanges and their distribution in human lymphocytes in relation to age, sex and smoking”, *Mutat. Res.*, 306: 173-180 (1994).

Levy, J., Morgan, J., Brown, E., “Oxford Diyaliz El Kitabı”, ed. Uslan, İ., *Nobel Tıp Kitabevleri*, Bölüm 2, 77 (2002).

Liao, W., McNutt, M.A., Zhu, W.G., “The comet assay: A sensitive method for detecting DNA damage in individual cells”, *Methods*, 48:46–53 (2009).

Lindahl, T., “Instability and decay of the primary structure of DNA”, *Nature*, 362:709-715 (1993).

Liu, P.T., Stenger, S., Tang, D.H., Modlin, R., “Cutting edge: Vitamin D-mediated human antimicrobial activity against *Mycobacterium tuberculosis* is dependent on the induction of cathelicidin”, *J. Immunol.*, 179: 2060-2063 (2007).

Liu, P.T., Stenger, S., Li, H., Modlin, R., “Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response”, *Science*, 311: 1770-1773 (2006).

Locatelli, F., Canaud, B., Eckardt, K.U., Stenvinkel, P., Wanner, C., Zocalli, C., “Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome”, *Nephrol Dial. Transplant.*, 18: 1272-1280 (2003).

Loft, S., Poulsen, H.E., “Cancer risk and oxidative DNA damage in man”, *J. Mol. Med.*, 74: 297–312 (1996).

Lucchi, L., Iannone, A., Bergamini, S., Stipo L, Perrone S, Uggeri S, Gatti V, Ferrari F, Tomasi A, Albertazzi A, “Comparison between hydroperoxides and malondialdehyde as markers of acute oxidative injury during hemodialysis”, *Artif. Organs.*, 29: 832–837 (2005).

Mailloux, L.U., Bellucci, A.G., Wilkes, B.M., Napolitano, B., Mossey, R.T., Lesser, M., Bluestone, P.A., “Mortality in dialysis patients: analysis of the causes of death”, *Am J. Kidney Dis.*, 18 (3): 326-335 (1991).

Maisonneuve, P., Agodoa, L., Geliert, R., Stewart, J.H., Buccianti, G., Lowenfels, A.B., Wolfe, R.A., Jones, E., Disney, A.P., Briggs, D., McCretfic, M., Boyle, P., “Cancer in patients on dialysis for end-stage renal disease: an international collaborative study”, *Lancet*, 354: 93-99 (1999).

Martinet, W., Knaapen, M.W., De Meyer, G.R., Herman, A.G., Kockx, M.M., “Elevated levels of oxidative DNA damage and DNA repair enzymes in human atherosclerotic plaques”, *Circulation*, 106: 927–932 (2002).

Mateuca, R., Lombaert, N., Aka, P.V., Decordier, I., Kirsch-Volders, M., “Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring”, *Biochimie*, 88 (11): 1515-1531 (2006).

Mayer, B., Zitta S, Greilberger, J., Holzer, H., Reibnegger, G., Hermetter, A., Oettl, K., “Effect of hemodialysis on the antioxidative properties of serum”, *Biochim. Biophys. Acta.*, 1638:267-272 (2003).

McArt, D.G., McKerr, G., Saetzler, K., Howard, C.V., Downes, C.N., Wasson, G.R., “Comet sensitivity in assessing DNA damage and repair in different cell cycle stages”, *Mutagenesis*, 25(3): 299-303 (2010).

Melamed, M.L., Michos, E.D., Post, W., Astor, B., “25-Hydroxyvitamin D levels and the risk of mortality in the general population”, *Arch Intern Med.*, 168:1629-1637 (2008).

Mercer, J., Mahmoudi, M., Bennett, M., “DNA damage, p53, apoptosis and vascular disease”, *Mutat. Res.*, 621: 75–86 (2007).

Merkus, M.P., Jager, K.J., Dekker, F.W., et al., “Predictors of poor outcome in chronic kidney patients: the Netherlands cooperative study on the adequacy of dialysis”, *Am J. Kidney Dis.*, 35 (1): 69-79 (2000).

Miedema, K., “Laboratory tests in diagnosis and management of diabetes mellitus. Practical considerations”, *Clin. Chem. Lab. Med.*, 41(9):1259-1265 (2003).

Mimic-Oka, J., Simic, T., Pljesa, M., Stupar, N., Turkovic, S., “Oxidative modifications of plasma proteins in different stages of chronic renal failure”, *Med Biol.*, 8:1-5 (2001).

Mitnick, MA., Grey, A., Masiukiewicz, U., Bartkiewicz, M., Rios-Velez, L., Friedman, S., Xu, L., Horowitz, M. C., Insogna, K., “Parathyroid hormone induces hepatic production of bioactive interleukin-6 and its soluble receptor”, *Am J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 280:s5–E412 (2001).

Miyata, T., Kurokawa, K., Van Ypersele De Strihou, C., “Advanced glycation and lipoxidation end products: role of reactive carbonyl compounds generated during carbohydrate and lipid metabolism”, *J. Am Soc. Nephrol.*, 11: 1744–1752 (2000).

Miyazaki, Y., Kawano, H., Yoshida, T., Miyamoto, S., Hokamaki, J., Nagayoshi, Y., Yamabe, H., Nakamura, H., Yodoi, J., Ogawa, H., “Pancreatic B-cell function is altered by oxidative stress induced by acute hyperglycaemia”, *Diabet. Med.*, 24: 154-160 (2007).

Moller, P., “Assessment of reference values for DNA damage detected by the comet assay in human blood cell DNA”, *Mutat. Res.*, 612: 84–104 (2006a).

Moller, P., “The alkaline comet assay: towards validation in biomonitoring of DNA damaging exposures”, *BCPT.*, 98: 336-345 (2006b).

Moller, P., Loft, S., “Oxidative DNA damage in human white blood cells in dietary antioxidant intervention studies”, *Am J. Clin. Nutr.*, 76: 303–310 (2002).

Montoro, A., Soriano, J.M., Barquinero, J.F., Almonacid, M., Montoro, A., Verdu G., Sahuquillo, V., Villaescusa, J.I., Sebastia, N., “Assessment *in vitro* of cytogenetic and genotoxic effects of propolis on human lymphocytes”, *Food Chem. Toxicol.*, 50: 216-221 (2012).

Moynahan, M.E., Jasin, M., “Mitotic homologous recombination maintains genomic stability and suppresses tumorigenesis”, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 11: 196-207 (2010).

Murli, H., “Screening assay for chromosomal aberrations in Chinese hamster ovary (CHO) cells with argentin”, *Final Report*, 23: 1-15 (2003).

Müller, C., Eisenbrand, G., Gradinger, M., Rath, T., Albert, F.W., Vienken, J., Singh, R., Farmer, P.B., Stockis, J.P., Janzowski, C., “Effects of hemodialysis, dialyser type and iron infusion on oxidative stress in uremic patients”, *Free Radic. Res.*, 38 (10): 1093-1100 (2004).

Nakabeppu, Y., Sakumi, K., Sakamoto, K., Tsuchimoto, D., Tsuzuki, T., Nakatsu, Y., “Mutagenesis and carcinogenesis caused by the oxidation of nucleic acids”, *Biol. Chem.*, 387: 373–379 (2006).

Nas, A., “Sürekli Ayaktan Periton Diyalizi Yapan Hastalarda DNA Hasarının Comet Test İle Değerlendirilmesi”, Uzmanlık Tezi, *Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD* Ankara (2011).

Natarajan, A.T., “Chromosome aberrations: past, present and future”, *Mutat. Res.*, 504 (1-2): 3-16 (2002).

Nguyen-Khoa, T., Massy, Z.A., De Bandt, J.P., Kebede, M., Salama, L., Lambrey, G., Witko-Sarsat, V., Drüeke, T.B., Lacour, B., Thévin, M. “Oxidative stress and haemodialysis: role of inflammation and duration of dialysis treatment”, *Nephrol. Dial. Transplant.*, 16: 335–340 (2001).

Nicco, C., Laurent, A., Chereau, C., Weill, B., Batteux, F. “Differential modulation of normal and tumor cell proliferation by reactive oxygen species”, *Biomed Pharmacother.*, 59 (4): 169–174 (2005).

Nissenson, A.R., Fine, R.N., “Diyabet ve diyaliz”, Klinik diyaliz, ed. Atasoyu, E.M., Cebeci, İ., 4. baskı, *Güneş Kitabevi*, 877 (2009).

Norppa, H., Bonassi, S., Hansteen, I.L., Hagmar, L., Strömberg, U., Rössner, P., Boffeta, P., Lindholm, C., Gundy, S., Lazutka, J., Cebulska-Wasilewska, A.,

Fabianova, E., Sram, R.J., Knudsen, L. E., Barale, R., Fucic, A., “Chromosomal aberrations and SCEs as biomarkers of cancer risk”, *Mutat. Res*, 600: 37-45 (2006).

Oberg, B.P., McMenamin, E., Lucas, F.L., McMonagle, E., Morrow, J., Ikizler, T.A., Himmelfarb, J. Increased prevalence of oxidant stress and inflammation in patients with moderate to severe chronic kidney disease. *Kidney Int*. 65: 1009–1016 (2004).

Olive, P.L., Banath, J.P., Durand, R.E., “Detection of etoposide resistance by measuring DNA damage in individual Chinese hamster cells”, *J. Natl. Cancer Inst.*, 82: 779–83 (1990).

Olive, P.L., “DNA damage and repair in individual cells: applications of the comet assay in radiobiology”, *Int. J. Radiat. Biol.*, 75:395–405 (1999).

Ostling, O., Johanson, K.J., “Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells”, *Biochem. Bioph. Res. Co.*, 123 (1): 291-298 (1984).

Ott, M., Gogvadze, V., Orrenius, S., Zhivotovsky, B., “Mitochondria, oxidative stress and cell death” *Apoptosis*, 12:913–922 (2007).

Öztaş, S., Keskinler, F., Tatar, A.G., Turgut, K., Batat, İ., “Üremi nedeniyle ilk kez hemodiyalize alınacak hastalarda sitogenetik incelemeler (Ön Çalışma)” *Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı*, Erzurum, 33: 47-51 (2001).

Öztürk, Ş., Palandüz, Ş., Çefle, K., Tutkan, G., Uçur, A., Dinçol, G., Nalçacı, M., Aktan, M., Yavuz, S., Küçükkaya, R.D., “Genotoxicity and sister chromatid exchange in patients with myelodysplastic disorders”, *Cancer Genet. Cytogen.*, 159:148–150 (2005).

Palleschi, S., De Angelis, S., Diana, L. Rossi, B., Papa, V., Severini, G., Splendiani, G., “Reliability of oxidative stress biomarkers in hemodialysis patients: a comparative study”, *Clin. Chem. Lab. Med.*, 45 (9): 1211-1218 (2007).

Pan, H.Z., Chang, D., Feng, L.G., Xu, F.J., Kuang, H.Y., Lu, M.J., “Oxidative damage to DNA and its relationship with diabetic complications”, *Biomed Environ. Sci.*, 20: 160–163 (2007).

Park, E.H., Kim, Y.I., Byun, D.H., Lee, I.Y., Lee, I.S., “Baseline frequency of sister-chromatid exchanges in 142 persons of the general Korean population”, *Mutat. Res.*, 268: 239-246 (1992).

Parra-Delgado, H., Garcia-Pillado, F., Sordo, M., Ramirez-Apan, T., Martinez-Va'zquez, M., Ostrosky-Wegman, P., “Evaluation of the cytotoxicity, cytostaticity and genotoxicity of Argentatins A and B from *Parthenium argentatum* (Gray)”, *Life Sci.*, 77: 2855–2865 (2005).

Parry, J.M., Kirsch-Volders, M., “Special issue on *in vitro* MN trial”, *Mutat. Res.*, 702: 132-134 (2010).

Paul, J.L., “Influence of uremia on polymorphonuclear leukocytes oxidative metabolism in end-stage renal disease and dialyzed patients”, *Nephron*, 57:428-432 (1991).

Pepe, J., Romagnoli, E., Nofroni, I., Pacitti, M.T., De Geronimo, S., Letizia, C., Tonnarini, G., Scarpiello, A., D’Erasmus, E., Minisola, S., “Vitamin D status as the major factor determining the circulating levels of parathyroid hormone: a study in normal subjects”, *Osteoporos Int.*, 16:805–812 (2005).

Pernice, F., Floccari, F., Nostro, L. Caccamo, C., Belghity, N., Mantuano, S., Romeo, A., Barilla, A., Aloisi, C., Ruello, A., Frisina, N., Buemi, M., “Oxidative stress, sister chromatid exchanges and apoptosis in the pathogenesis of lymphocytopenia in ESRD patients”, *J. Nephrol.*, 19 (5): 613–620 (2006).

Perry, P., Evans, H.J., “Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister chromatid exchange”, *Nature*, 258 (5531): 121-125 (1975).

Perry, P.E., Thomson, E.J., “The Methodology of Sister Chromatid Exchanges”, *Handbook of Mutagenicity Test Procedures*, 2 nd edition, eds. Kilbey, B.J., Legator, M., Nichols, W., Ramel, C., *Elsevier*, Amsterdam, 495-529 (1984).

Perry, P.E., Wolff, S., “New giemsa method for the differential staining of sister chromatids”, *Nature*, 251 (5471): 156-158 (1974).

Peuchant, E., Carbonneau, M.A., Dubourg, L., Thomas, M.J., Perromat, A., Vallot, C., Clerc, M., “Lipoperoxidation in plasma and red blood cells of patients undergoing hemodialysis: Vitamins A, E and iron status”, *Free Radic. Biol. Med.*, 16: 339-346 (1994).

Piperakis, S.M., “Comet assay: A brief history”, *Cell Biol. Toxicol.*, 25: 1-3 (2009).

Pittas, A.G., Chung, M., Trikalinos, T., Mitri, J., Brendel, M., Patel, K., Lichtenstein, A.H., Lau, J., Balk, E.M., “Systematic review: vitamin D and cardiometabolic outcomes”, *Ann. Intern. Med.*, 152:307–14 (2010).

Pittas, A.G., Lau, J., Hu, F.B., Dawson-Hughes, B., “The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis”, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 92: 2017–29 (2007).

Pra, D., Franke, S.I., Henriques, J.A., Fenech, M., “Iron and genome stability: an update”, *Mutat. Res.* 733: 92–99 (2012).

Preston, R.J., Skare, J.A., Aardema, M.J., “A review of biomonitoring studies measuring genotoxicity in humans exposed to hair dyes”, *Mutagenesis*, 25(1): 17-23 (2010).

Rangel-López, A., Paniagua-Medina, M.E., Urbán-Reyes, M., Cortes-Arredondo, M., Álvarez-Aguilar, C., López-Meza, J., Ochoa-Zarzosa, A., Lindholm, B., García-López, E., Paniagua, J. R., “Genetic damage in patients with chronic kidney disease, peritoneal dialysis and haemodialysis: a comparative study” *Mutagenesis*, 28 (2): 219-225 (2013).

Reheem, R.N.A.M.A., Fattah, M.A.H.M.A. “Serum vitamin D and parathormone (PTH) concentrations as predictors of the development and severity of diabetic retinopathy”, *AJM.*, 49:119–123 (2013).

Rhee, M.S., McGoldrick, M.D., Meuwissen, H.J. “Serum factor from patients with chronic renal failure enhances polymorphonuclear leukocyte oxidative metabolism”, *Nephron*, 42(1): 6-13 (1986).

Roselaar, SE., Nazhat, NB., Winyard, PG., Jones, P., Cunningham, J., Blake, DR., “Detection of oxidants in uremic plasma by electron spin resonance spectroscopy”, *Kidney Int.*, 48 (1): 199–206 (1995).

Roth, J.M., Restani, R.G., Goncalves, T.T.S., Sphor, S.L.S., Ness, A.B., Martino-Roth, M.G. and Garcias, G.L., “Genotoxicity evaluation in chronic renal patients undergoing hemodialysis and peritoneal dialysis, using the micronucleus test”, *Genet. Mol. Res.*, 7: 433–443 (2008).

Rother, K.I., “Diabetes Treatment-Bridging the Divide”, *N. Engl. J. Med.*, 356 (15): 1499-1501 (2007).

Rösen, P., Nawroth, P.P., King, G., Möller, W., Tritschler, H.J., Packer, L., “The role of oxidative stress in the onset and progression of diabetes and its complications: a summary of a Congress Series sponsored by UNESCO-MCBN, the American Diabetes Association and the German Diabetes Society”, *Diabetes Metab. Res. Rev.*, 17: 189–212 (2001).

Rucker, D., Thadhani, R., Tonelli, M. “Trace element status in hemodialysis patients”, *Semin. Dial.*, 23 (4): 389–395 (2010).

Sander, M., Cadet, J., Casciano, D.A., Galloway, S.M., Marnett, L.J., Novak, R.F., Pettit, S.D., Preston, R.J., Skare, J.A., Williams, G.M., Van Houten, B., Gollapudi, B.B., “Proceedings of a workshop on DNA adducts: biological significance and applications to risk assessment”, Washington, DC, April 13-14, 2004. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 208:1-20 (2005).

Sandoval, S. B., Stoyanova, E., Coll, E., Pastor, S., Reyes, J., Andre’s, E., Ballarin, J., Xamena, N. and Marcos, R., “Genetic damage in chronic renal failure patients is

associated with the glomerular filtration rate index”, *Mutagenesis*, 25: 603–608 (2010).

Sardaş, S., Izdes, S., Ozcagli, E., Kanbak, O., Kadioglu, E., “The role of antioxidant supplementation in occupational exposure to waste anaesthetic gases”, *Int. Arch. Occup. Environ. Health.*, 80: 154–159 (2006).

Sardaş, S., Yılmaz, M., Öztok, U., Çakir, N., Karakaya, A.E., “Assessment of DNA strand breakage by comet assay in diabetic patients and the role of antioxidant supplementation”, *Mutat. Res.*, 490: 123–129 (2001).

Sarpkaya, S., “Kronik Böbrek Yetmezliğinde Protein Oksidasyonu”, Yüksek Lisans Tezi, *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Kayseri, 68 (2003).

Satman, İ., İmamoğlu, Ş., Yılmaz, C. “Diabetes mellitus ve komplikasyonlarının tanı, tedavi ve izlem kılavuzu”, *Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği Kılavuzu*, 4. Baskı, Ankara, 1-216 (2009).

Satoh, T., Hatanaka, M., Yamamoto, K., Kuro-o, M., Sofuni, T., “Application of mFISH for the analysis of chemically-induced chromosomal aberrations: a model for the formation of triradial chromosomes”, *Mutat. Res.*, 504(1-2): 57-65 (2002).

Schiffl, H., Lang, SM., Stratakis, D., Fischer, R., “Effects of ultrapure dialysis fluid on nutritional status and inflammatory parameters”, *Nephrol. Dial. Transplant.*, 16: 1863-1869 (2001).

Schmidt, M.A., Sanger, W.G. “Sister chromatid exchange in aged human lymphocytes. A brief note” *Mech. Ageing Dev.*, 16 (1): 67–70 (1981).

Schneider, E.L., Nakanishi, Y., Lewis, J., Sternberg, H., “Simultaneous examination of sister chromatid exchanges and cell replication kinetics in tumor and normal cells *in vivo*”. *Cancer Res.*, 41: 4973-4975 (1981).

Schupp, N., Heidland, A., Stopper, H., “Genomic Damage in Endstage Renal Disease-Contribution of Uremic Toxins”, *Toxins*, 2:2340-2358 (2010).

Schupp, N., Schmid, U., Heidland, A., Stopper, H., “New approaches for the treatment of genomic damage in end-stage renal disease”, *J. Ren. Nutr.*, 18: 127–133 (2008).

Schupp, N., Stopper, H., Rutkowski, P., Kobras, K., Nebel, M., Bahner, U., Vienken, J., Heidland, A., “Effect of Different Hemodialysis Regimens on Genomic Damage in End-Stage Renal Failure”, *Semin. Nephrol.*, 26:28-32 (2006).

Sebekova, K., Wagner, Z., Schupp, N., Boor, P., “Genomic damage and malignancy in end-stage renal failure: do advanced glycation end products contribute?”, *Kidney Blood Press. Res.* 30 (1): 56–66 (2007).



Serdengeçti, K., Seyati, N., “Diyaliz Endikasyonları ve Renal Replasman Tedavisi Seçimi” Hekimler İçin Hemodiyaliz Kaynak Kitabı, ed. Arık, N., Ateş, K., Süleymanlar, G., Tonbul, Z., Türk, S., Yıldız, A., **Güneş Tıp Kitabevleri**, Ankara, Bölüm 2, 25-30 (2009).

Sheth, F.J., Patel, P., Vaidya, A.D.B., Vaidya, R., Sheth, J., “Increased frequency of sister chromatid exchanges in patients with type II diabetes”, **Curr. Sci.**, 90: 236–240 (2006).

Shimizu, MH., Araujo, M., Borges, SM., de Tolosa, EM., Seguro, AC. Influence of age and vitamin E on postischemic acute renal failure. **Exp. Gerontol.**, 39(5): 825-830 (2004).

Shoben, A.B., Rudser, K.D., de Boer, I.H., Young, B., Kestenbaum, B., “Association of oral calcitriol with improved survival in nondialyzed CKD”, **J. Am. Soc. Nephrol.**, 19: 1613-1619 (2008).

Shokravi, MT., Marcus, DM., Alroy, J., Egan, K., Saornil, MA., Albert, DM. “Vitamin D inhibits angiogenesis in transgenic murine retinoblastoma”. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.**, 36: 83-87 (1995).

Simone, S., Gorin, Y., Velagapudi, C., Abboud, H.E., Habib, S.L., “Mechanism of oxidative DNA damage in diabetes: tuberin inactivation and downregulation of DNA repair enzyme 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine-DNA glycosylase”. **Diabetes**, 57(10): 2626-2636 (2008).

Singh, N.P., McCoy, M.T., Tice, R.R., Schneider, E.L., “A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells”, **Exp. Cell. Res.**, 175: 184-191 (1988).

Slupphaug, G., Kavli, B., Krokan, HE., “The interacting pathways for prevention and repair of oxidative DNA damage”, **Mutat. Res.**, 531:231-251 (2003).

Soloneski, S., Gonzales, M., Piaggio, E., Reigosa, M.A., Larramendy, M.L., “Effects of dithiocarbamate pesticide zineb and its commercial formulation, azzurro. III. genotoxic evaluation on Chinese hamster ovary (CHO) cells”, **Mutat. Res.**, 514: 201-212 (2002).

Sönmez, Ö.U., “Hemodiyaliz Tedavisi Gören Diyabetik ve Nondiyabetik Hastalarda Fibrinolitik Sistem Aktivitesinin Araştırılması” **T.C Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi 3. İç Hastalıkları**, İstanbul (2008).

Söylemezoğlu, O., Fidan, K., “Çocuklarda Hemodiyaliz”, Hekimler İçin Hemodiyaliz Kaynak Kitabı, ed. Arık, N., Ateş, K., Süleymanlar, G., Tonbul, Z., Türk, S., Yıldız, A., **Güneş Tıp Kitabevleri**, Ankara, Bölüm 27, 361-366 (2009).

Speit, G., Hartmann, A., “The Comet Assay a sensitive genotoxicity test for the detection of DNA damage and repair”, *Methods Mol. Biol.*, 314: 275-286 (2006).

Speit, G., Schutz, P., Bonzheim, I., Trenz, K., Hoffmann, H., “Sensitivity of the FPG protein towards alkylation damage in the comet assay”, *Toxicol. Lett.*, 146: 151-158 (2004).

Speit, G., Haupter, S., “On the mechanism of differential giemsa staining of Bromodeoxyuridine substituted Chromosome, II. Differences between the demonstration of sister chromatid differentiation and replication patterns”, *Hum. Genet.*, 70: 126-129 (1985).

Speit, G., Henderson, L., “Review of the *in vivo* genotoxicity tests performed with styrene”, *Mutat. Res.*, 589: 67-79 (2005).

Spittle, M.A., Hoenich, N.A., Handelman, G.J., Adhikarla, R., Homel, P., Levin, N.W., “Oxidative stress and inflammation in hemodialysis patients”, *Am J. Kidney Dis.* 38: 1408–1413 (2001).

Steffes, M.W., Chavers, B.M, Bilous RW., Mauer, S.M., “The predictive value of microalbuminuria. *Am J. Kidney Dis.*, 8: (1):25-28 (1989).

Stopper, H., Boullay, F., Heidland, A., Vienken, J., Bahner, U., “Comet-assay analysis indentifies genomic damage in lymphocytes of uremic patients”, *Am J. Kidney Dis.*, 38(2):296-301 (2001).

Stopper, H., Meysen, T., Böckenförde, A., Bahner, U., Heidland, A. And Vamvakas, S., “Increased genomic damage in lymphocytes of patients before and after long-term maintenance hemodialysis therapy”, *Am J. Kidney Dis.*, 34: 433–437 (1999).

Stopper, H., Schupp, N., Klassen, A., Sebekova, K., Heidland, A., “Genomic damage in chronic renal failure-potential therapeutic interventions”, *J. Renal Nutr.*, 15 (1): 81-86 (2005).

Stopper, H., Treutlein, AT., Bahner, U., Schupp, N., Schmid, U. Brink A, Perna A, Heidland A., “Reduction of the genomic damage level in haemodialysis patients by folic acid and vitamin B12 supplementation”, *Nephrol. Dial. Transplant.*, 23: 3272–3279 (2008).

Stoyanova, E. Sandoval, S.B., Zuniga, L.A., El-Yamani, N., Coll, E., Pastor, S., Reyes, J., Andres, E., Ballarin, J., Xamena, N., Marcos, R., “Oxidative DNA damage in chronic renal failure patients”, *Nephrol. Dial. Transplant.*, 25 (3): 879–885 (2010).

Sun, Y., Oberley, L.W., “Redox regulation of transcriptional activators”, *Free Radic. Biol. Med.*, 21: 335-348 (1996).

Suzuki, Y.J., Forman, H.J., Sevanian, A., “Oksidants of stimulators of signal transduction”, *Free Rad. Bio. Med.*, 22, 269-285 (1997).

Süleymanlar, G., “Kronik Böbrek Hastalığı ve Yetmezliği: Tanımı, Evreleri ve Epidemiyolojisi”, *J. Int. Med. Sci.*, 3(38):1-7 (2007).

Süleymanlar, G., “Kronik Böbrek Hastalığı ve Yetmezliği” Hekimler İçin Hemodiyaliz Kaynak Kitabı, ed. Arık, N., Ateş, K., Süleymanlar, G., Tonbul, Z., Türk, S., Yıldız, A., *Güneş Tıp Kitabevleri*, Ankara, Bölüm 1, 1-25 (2009).

Tabak, O., Gelişgen, R., Erman, H., Erdenen, F., Muderrisoglu, C., Aral, H., Uzun, H., “Oxidative lipid, protein, and DNA damage as oxidative stress markers in vascular complications of diabetes mellitus”, *Clin. Invest. Med.*, 34 (3): 163-171 (2011).

Tarng, D.C., Tsai, T-J., Chen, W.T., Liu, T.Y., “Effect of human OGG1 1245C→G gene polymorphism on 8-hydroxy-2-deoxyguanosine levels of leukocyte DNA among patients undergoing chronic hemodialysis”, *J. Am Soc. Nephrol.*, 12: 2338–2347 (2001).

Tarng, D.C., Huang, T.P., Liu, T.Y., Chen, H.W., Sung, YJ., Wei, Y.H., “Effect of vitamin E-bonded membrane on 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine level in leukocyte DNA of hemodialysis patients”, *Kidney Int.*, 58: 790-799 (2000a).

Tarng, DC., Huang, TP., Wei, YH., Liu, TY., Chen, HW., Wen Chen, T., Yang, WC., “8-hydroxy-2'-deoxyguanosine of leukocyte DNA as a marker of oxidative stress in chronic hemodialysis patients”, *Am J. Kidney Dis.*, 36: 934–944 (2000b).

Tarng, DC., Wen Chen, T., Huang TP, Chen CL, Liu TY, Wei, YH., “Increased oxidative damage to peripheral blood leukocyte DNA in chronic peritoneal dialysis patients”, *J. Am Soc. Nephrol.*, 13 (5): 1321-1330 (2002).

Tatar, M., Ergin, G., Ecdar, T., “Cost Analysis of Private Hemodialysis Centers in Turkey”, *Turk. Neph. Dial. Transpl.*, 22 (3): 270-282 (2013).

Taverna, M.J., Selam J.L., Slama, G., “Association between a protein polymorphism in the start codon of the vitamin D receptor gene and severe diabetic retinopathy in C-peptide-negative type 1 diabetes”, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 90(8): 4803–4808 (2005).

Taylor, J.H., “Sister chromatid exchanges in tritium-labeled chromosomes”, *Genetics*: 43: 515–529 (1958).

Tepel, M., Echelmeyer, M., Orie, N.N., Zidek, W., “Increased intracellular reactive oxygen species in patients with end-stage renal failure: effect of hemodialysis”, *Kidney Int.*, 58: 867-872 (2000).

Terawaki, H., Yoshimura, K., Hasegawa, T., Matsuyama, Y., Negawa, T., Yamada, K., Matsushima, M., Nakayama, M., Hosoya, T., Era, S., “Oxidative stress is enhanced in correlation with renal dysfunction: examination with the redox state of albumin”, *Kidney Int.*, 66, 1988–1993 (2004).

Terradas, M., Martin, M., Tusell, L., Genesca, A., “Genetic activities in micronuclei: is the DNA entrapped in micronuclei lost for the cell?”, *Mutat. Res.*, 705: 60-67 (2010).

Teschner, M., Garte, C., Ruckle-Lanz, H., Mader, U., Stopper, H., Klassen A., Heidland, A., “Incidence and spectrum of malignant disease among dialysis patients in north bavaria”, *Dtsch. Med. Wochenschr.*, 127:2497-2502 (2002).

Tice, R.R., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., Miyamae, Y., Rojas, E., Ryu, J.C., Sasaki, Y.F., “Single cell gel/Comet Assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing”, *Environ. Mol. Mutagen.*, 35: 206-221 (2000).

Tonelli, M., Wiebe, N., Hemmelgarn, B., Klarenbach, S., Field, C., Manns, B., Thadhani, R., Gill, J., “Trace elements in hemodialysis patients: a systematic review and meta-analysis”, *BMC Med.*, 7: 25 (2009).

Topaktaş, M., Speit, G., “Sister chromatid exchange (SCE) testinin mutajenite ve kanserojenitenin belirlenmesinde kullanılması”, *Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5 (1, 2, 3): 73-84 (1990).

Tretli, S., Hernes, E., Berg, J.P., Hestvik, U.E., Robsahm, T.E., “Association between serum 25 (OH)D and death from prostate cancer”, *Br J. Cancer.*, 100: 450-4 (2009).

Trzeciak, A.R., Mohanty, J.G., Jacob, K.D., Barnes, J., Ejiogu, N., Lohani, A., Zonderman, A.B., Rifkind, J.M., Evans, M.K., “Oxidative damage to DNA and single strand break repair capacity: Relationship to other measures of oxidative stress in a population cohort” *Mutat. Res.*, 736: 93– 103 (2012).

Tsuruoka, S., Kawaguchi, A., Nishiki, K., Hayasaka, T., Fukushima, C., Sugimoto, K., Saito, T., Fujimura, A., “Vitamin E bonded hemodialyzer improves neutrophil function and oxidative stress in patients with end-stage renal failure”, *Am J. Kidney Dis.*, 39: 127-133 (2002).

Tsuruya, K., Furuichi, M., Tominaga, Y., Shinozaki, M., Tokumoto, M., Yoshimitsu, T., Fukuda, K., Kanai, H., Hirakata, H., Iida, M., Nakabeppu, Y., “Accumulation of 8-oxoguanine in the cellular DNA and the alteration of the OGG1 expression during ischemiareperfusion injury in the rat kidney”, *DNA Repair*, 2: 211–229 (2003).

Tuohimaa, P., “An optimal serum calcidiol concentration for cancer prevention”, *Anticancer Res.*, 31: 1503-1504 (2011).

Türkiye Endokrinoloji Ve Metabolizma Derneği, “Diyabet ve kanser ilişkisi”, *Diyabetes mellitus ve komplikasyonlarının tanı, tedavi ve izlem kılavuzu*, 5. Baskı, Bölüm 18, 183-184 (2011).

Usberti, M., Gerardi, G., Bufano, G., Tira, P., Micheli, A., Albertini, A., Floridi, A., Di Lorenzo, D., Galli, F., “Effects of erythropoietin and vitamin E-modified membrane on plasma oxidative stress markers and anemia of hemodialyzed patients”, *Am J. Kidney Dis.*, 40 (3): 590-599 (2002).

Valko, M., Morris H., Mazur M., Rapta P., Bilton R.F., “Oxygen free radical generating mechanisms in the colon: Do the semiquinones of vitamin K play a role in the aetiology of colon cancer?” *Biochim. Biophys. Acta. Gen. Subj.*, 1527: 161-166 (2001).

Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M., “Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer”, *Chem. Biol. Interact.*, 160:1-40 (2006).

Valverde , M., Rojas, E., “Environmental and occupational biomonitoring using the Comet assay”, *Mutat. Res.*, 681 (1): 93-109 (2009).

Vamvakas, S., Bahner, U., Becker, P., Steinle, A., Gotz, R., Heidland, A., “Impairment of DNA repair in the course of long-term hemodialysis and under cyclosporine immunosuppression after renal transplantation”, *Transplant Proc.*, 28, 3468-3473 (1996).

Vamvakas, S., Bahner, U., Heidland, A., “Cancer in end-stage renal disease: potential factors involved-editorial”, *Am J. Nephrol.*, 18: 89–95 (1998).

Van der Vliet, A., Bast, A., “Effect of oxidative stress on receptor and signal transmission”, *Chem. Biol. Interact.*, 85: 95-116 (1992).

Van’t Hof, J., “The action of IAA and kinetin on the mitotic cycle of proliferative and stationary phase excised root meristem” *Exp. Cell. Res.*, 51: 167-176 (1968).

Vecchio, L.D., Locatelli, F., Carini, M., “What We Know About Oxidative Stress in Patients with Chronic Kidney Disease on Dialysis Clinical Effects, Potential Treatment, and Prevention” *Seminars in Dialysis*, 24(1): 56–64, (2011).

Vural, N. “Toksikoloji”, *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*, Ankara, 115-129 (2005).

Wang, L., Manson, J.E., Song, Y., Sesso, H.D., “Systematic review: vitamin D and calcium supplementation in prevention of cardiovascular events”, *Ann. Intern. Med.*, 152:315–23 (2010).

Wang, T.J., Pencina, M.J., Booth, S.L., Jacques, P.F., Ingelsson, E., Lanier, K., Benjamin, E.J., D'Agostino, R.B., Wolf, M., Vasan, R.S., "Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease", *Circulation*, 117:503–511 (2008b).

Wang, Y., Chen, X., Song, Y., Caballero, B., Cheskin, L.J., "Association between obesity and kidney disease: a systematic review and meta-analysis", *Kidney Int.*, 73: 19-33 (2008a).

Ward, R.A., Leish, Mc. K.R., "Oxidant stress in hemodialysis patients: what are the determining factors?", *Artif Organs.*, 27 (3): 230-236 (2003).

Ward, R.A., McLeish, K.R., "Hemodialysis with cellulose membranes primes the neutrophil oxidative burst", *Artif Organs.*, 19: 801–807 (1995).

Whitlock, G., Lewington, S., Sherliker, P., Clarke, R., Emberson, J., Halsey, J., Qizilbash, N., Collins, R., Peto, R., "Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies", *Lancet*, 373 (9669): 1083 (2009).

Wilson III, D.M., Bohr, V.A., McKinnon, P.J., "DNA damage, DNA repair, ageing and age-related disease", *Mech. Ageing Dev.*, 129 (7-8):349-52 (2008).

Wilson III, D.M., Thompson, L.H., "Molecular mechanisms of sister-chromatid exchange", *Mutat. Res.*, 616: 11-23 (2007).

Witko-Sarsat, V., Friedlander, M., Capeillère-Blandin, C., Nguyen-Khoa, T., Nguyen, A.T., Zingraff, J., Jungers, P., Descamps-Latscha, B., "Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia", *Kidney Int.*, 49(5): 1304-1313 (1996).

Wolf, M., Shah, A., Gutierrez, O., Ankers, E., Monroy, M., Tamez, H., Steele, D., Chang, Y., Camargo, CA Jr., Tonelli, M., Thadhani, R., "Vitamin D levels and early mortality among incident hemodialysis patients", *Kidney Int.*, 72: 1004-1013 (2007).

World Health Organization, "Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases", *WHO Technical Report Series*, 916: 1-149 (2003).

Wu, L.L., Chiou, C.C., Chang, P.Y., Wu, J.T., "Urinary 8-OHdG: a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics", *Clinica. Chimica. Acta.*, 339: 1–9 (2004).

Yavuz, D., Sezer, S., "Hemodiyaliz Reçetelendirilmesi" Hekimler İçin Hemodiyaliz Kaynak Kitabı, ed. Arık, N., Ateş, K., Süleymanlar, G., Tonbul, Z., Türk, S., Yıldız, A., *Güneş Tıp Kitabevleri*, Ankara, Bölüm 5, 65-76 (2009).

Yazıcı, C., Köse, K., "Kronik Böbrek Yetmezliğinde Oksidatif Stres ve Biyomarkırları", *Nefroloji Dergisi*, 13 (3): 117-124 (2004).

Yılmaz, R., Altun, B., “Diyabetik Hastalarda Hemodiyaliz Uygulaması”, Hekimler İçin Hemodiyaliz Kaynak Kitabı, ed. Arık, N., Ateş, K., Süleymanlar, G., Tonbul, Z., Türk, S., Yıldız, A., , **Güneş Tıp Kitabevleri**, Ankara, Bölüm 26, 349-360 (2009).

Yılmaz, S., “Bazı gıda katkı maddelerinin genotoksik etkileri”, Doktora Tezi, **Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara (2008).

Yu, S., Paetau-Robinson, I., “Dietary supplements of vitamins E and C and beta-carotene reduce oxidative stress in cats with renal insufficiency”, **Vet. Res. Commun.**, 30: 403–413 (2006).

Yüzbaşıoğlu, D., Çelik, M., Yılmaz, S., Ünal, F., Aksoy, H., “Clastogenicity of the fungicide afugan in cultured human lymphocytes”, **Mutat. Res.**, 604 (1-2): 53-59 (2006).

Zachara, B.A., Gromadzinska, J., Palus, J., Zbrog, Z., Swiech, R., Twardowska, E., Wasowicz, W., “The Effect of Selenium Supplementation in the Prevention of DNA Damage in White Blood Cells of Hemodialyzed Patients: A Pilot Study”, **Biol. Trace Elem. Res.**, 142:274–283 (2011).

Zachara, BA., Gromadzinska, J., Wasowicz, W., Zbrog, Z., “Red blood cell and plasma glutathione peroxidase activities and selenium concentration in patients with chronic kidney disease: a review”, **Acta. Biochim. Pol.**, 53: 663–677 (2006).

Zeiger, E., “Genetic Toxicology Testing”, *Comprehensive Toxicology*, ed. Charlene A. McQueen, 3, **Chapel Hill NC**, USA, 139-158 (2010).

Zeiger, E. “History and rationale of genetic toxicology testing: an impersonal, and sometimes personal”, **Environ. Mol. Mutagen.**, 44: 363-71 (2004).

Zhang, Y., Zhou, J., Wang, T., Cai, L. “High level glucose increases mutagenesis in human lymphoblastoid cells”, **Int. J. Biol. Sci.**, 3: 375–379 (2007).

**EKLER**



## Ek-1. Etik Kurul Raporu



T.C  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KURUMSAL ARAŞTIRMA DEĞERLENDİRME KOMİSYONU  
GAZİ UNIVERSITY MEDICAL FACULTY INSTITUTIONAL REVIEW BOARD  
ANKARA-TÜRKİYE  
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL ADI	"Diyabetik ve Diyabetik Olmayan Kronik Böbrek Yetmezlikli Hemodiyaliz Hastalarında Genetik Hasarın Genotoksiste Testleriyle Belirlenmesi"				
	SORUMLU ARAŞTIRICI UNVANI, / ADI	Doç.Dr.Deniz Yüzbaşıoğlu				
DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Tarihi / değişiklik No.su	Dili Türkçe			
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ					
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:072		Tarih: 25 Haziran 2010			
	<p>Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi'nde yapılması tasarlanan ve yukarıdaki künyede kayıtlı araştırma projesine ait dosya etik açıdan incelenmiş, araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler yönünden bütçe dışında uygun olduğuna karar verilmiştir.</p> <p>Komisyunun kararı, projenin bütçesi TÜBİTAK tarafından kabul edildiği takdirde yürürlüğe girecek olup, TÜBİTAK kararının Komisyonumuza bildirilmesi gerekmektedir.</p>					
KURUMSAL ARAŞTIRMA DEĞERLENDİRME KOMİSYONU BİLGİLERİ						
ÇALIŞMA ESASI	İYİ KLİNİK UYGULAMALAR KILAVUZU (2010 Versiyonu), BİYOTİK SÖZLEŞMESİ, KLİNİK ARAŞTIRMALAR HAKKINDA YÖNETMELİKTE DEĞİŞİKLİK YAPILMASINA DAİR YÖNETMELİK(11 Mart 2010 tarih ve 27518 sayılı)					
ÜYELER						
Unvanı / Adı / Soyadı Ek Üyeligi	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof.Dr.Aynur OĞUZ BAŞKAN	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları- Çocuk Onkoloji	G.Ü.T.F Çocuk Sağ.ve Hast.A.D.	K	E H	xx H	E H
Prof.Dr.Canan ULUOĞLU BAŞKAN YRD.	Tıbbi Farmakoloji	G.Ü.T.F Tıbbi Farmakoloji A.D.	K	E H	xx H	E H
Prof.Dr.Sefer AYCAN ÜYE	Halk Sağlığı	G.Ü.T.F Halk Sağlığı A.D.	E	E H	E X	E H
Prof.Dr.Çağatay ÇİFTER ÜYE	Genel Cerrahi	G.Ü.T.F Genel Cerrahi A.D.	E	E H	E X	E H
Prof.Dr.Aysel ARICIOĞLU ÜYE	Tıbbi Biyokimya	G.Ü.T.F Tıbbi Biyokimya A.D.	K	E H	xx H	E H
Prof.Dr.Mustafa KAVUTÇU ÜYE	Tıbbi Biyokimya	G.Ü.T.F Tıbbi Biyokimya A.D.	E	E H	E X	E H
Prof.Dr.Öznur L. BOYUNAĞA ÜYE	Radyoloji	G.Ü.T.F Radyoloji A.D.	K	E H	xx H	E H
Prof.Dr.Gonca AKBULUT ÜYE	Fizyoloji	G.Ü.T.F Fizyoloji A.D.	K	E H	xx H	E H
Prof.Dr.Galip GÜZ ÜYE	İç Hastalıkları - Nefroloji	G.Ü.T.F İç Hast A.D-Nefroloji B.D.	E	E H	xx H	E H
Doç.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU ÜYE	Tıp Tarihi ve Etik	G.Ü.T.F Tıp Tarihi ve Etik A.D.	K	E H	xx H	E H
Doç.Dr.Aylar POYRAZ ÜYE	Tıbbi Patoloji	G.Ü.T.F Tıbbi Patoloji A.D.	K	E H	xx H	E H
Doç.Dr.Birol DEMİREL ÜYE	Adli Tıp	G.Ü.T.F Adli Tıp A.D.	E	E H	xx H	E H
Hukuk Müşaviri Adem GELİR ÜYE	Hukuk Müşaviri	G.Ü.Rektörlük Hukuk Müşavirliği	E	E H	xx H	E H

\* Araştırma İle İlişki

\*\* Toplantıda Bulunma

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : MAMUR, Sevcan  
 Uyuğu : T.C.  
 Doğum tarihi ve yeri : 22.06.1983, Ankara  
 Medeni hali : Bekar  
 Telefon : 0 (312) 484 62 70  
 e-mail : smamur@gazi.edu.tr

### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Tezli Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi/Biyoloji Bölümü	2009
Lisans	Gazi Üniversitesi/Biyoloji Bölümü	2006
Lise	Dr. Şerafettin Tombuloğlu Süper Lisesi (YDA)	2001

### İş Deneyimi

2013-devam	Gazi Üniversitesi/Yaşam Bilimleri Uyg. ve Arş. Mer.	Uzman
2012-2013	Gazi Üniversitesi/Nanotıp ve İleri Tek. Arş. Uyg. Mer.	Uzman

### Yabancı Dil

İngilizce

### Yayınlar

1. Mamur S., Yüzbaşıoğlu D., Ünal F., Yılmaz S. Does the potassium sorbate induce genotoxic or mutagenic effects in lymphocytes?. *Toxicology In vitro*, 24:790–794 (2010).
2. Mamur S., Yüzbaşıoğlu D., Ünal F., Aksoy H. “Genotoxicity of food preservative sodium sorbate in human lymphocytes *in vitro*”. *Cytotechnology*, 64:553-562 (2012).

3. Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F., Koç, F., Öztemel, S., Aksoy, H., Mamur S., Demirtaş Korkmaz, F. “Genotoxicity assessment of vaccine adjuvant squalene”, *Food Chem. Toxicol.*, 56: 240–246 (2013).