

**KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ HASTALARINDA IL-4 VE IL-6 GEN  
POLİMORFİZMİ**

**Nagehan RAMAZANOĞLU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AĞUSTOS 2012  
ANKARA**

Nagehan RAMAZANOĞLU tarafından hazırlanan “Kronik Böbrek Yetmezliği Hastalarında IL-4 ve IL-6 Gen Polimorfizmi” adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Leyla AÇIK

.....

Tez Danışmanı, Biyoloji Anabilim Dalı

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

Prof. Dr. Leyla AÇIK

.....

Biyoloji Anabilim Dalı, G. Ü.

Prof. Dr. Kadriye ALTOK

.....

İç Hastalıkları Anabilim Dalı, G. Ü.

Doç. Dr. Ayten ÇELEBİ KESKİN

.....

Biyoloji Anabilim Dalı, K. Ü.

Tarih: 31 / 08 / 2012

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

Prof. Dr. Şeref SAĞIROĞLU

.....

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 ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Nagehan RAMAZANOĞLU

# **KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ HASTALARINDA IL-4 VE IL-6 GEN POLİMORFİZMİ**

**(Yüksek Lisans Tezi)**

**Nagehan RAMAZANOĞLU**

**GAZİ ÜNVERİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSİTİTÜSÜ**

**Ağustos 2012**

## **ÖZET**

Kronik böbrek hastalığı (KBH) kronik, renal veya sistemik hastalıklara bağlı olarak böbrek fonksiyonlarının dönüşümsüz kaybı şeklinde tanımlanan, Türkiye’de ve dünyada epidemi halini almış önemli bir halk sağlığı sorunudur. Diyaliz tedavisi görmekte olan KBH hastalarında, kardiyovasküler hastalıklar başta olmak üzere mortaliteyi artıran pek çok komplikasyon görülmektedir. Geçmiş çalışmalarda, bir takım çevresel ve genetik etmenlerin ilerleyici böbrek hasarı ve komplikasyonlarının oluşumunu tetiklediği öne sürülmektedir. Bu etmenlerden biri inflamasyon olup, interlökin 4 (IL-4) ve interlökin 6 (IL-6) sitokinlerinin de içinde yer aldığı bir dizi mekanizmalar sonucunda oluşmaktadır. Yapılan araştırmalar serum IL-4 ve IL-6 seviyelerinin kardiyovasküler komplikasyonlarla ilişkilendirilebileceğini ortaya koymuş olmasına rağmen, bu sitokin genlerindeki polimorfizmlerin kronik veya sistemik hastalıklarla ilişkisi konusunda farklı popülasyonlarda çelişkili sonuçlara ulaşılmıştır.

Bu çalışmanın amacı IL-4 intron 3 ve IL-6 -174 G/C gen polimorfizmleri ile kronik böbrek yetmezliği (KBY) arasındaki ilişkiyi tanımlamaktadır. Bununla birlikte, analizi yapılan genotiplerin, hastalığın klinik ve laboratuvar bulguları ile bir bağlantısı olup olmadığı araştırılmıştır.

Bu amaçla 137 KBY hastası ile 106 sağlıklı kontrol bireyin IL-4 intron 3 ve IL-6 -174 G/C genlerinin genotip ve allel dağılımları saptanarak, bu dağılımların bir takım hemogram ve biyokimyasal parametrelerle ilişkisi incelenmiştir. Tanımlanan IL-4 intron 3 gen allel ya da genotiplerin KBY ve klinik bulgularla anlamlı bir ilişkisi olmadığı ortaya konmuştur. IL-6 -174 G/C genotip dağılımının hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark tespit edilmiş olup, bazı klinik ve laboratuvar bulgularıyla yapılan karşılaştırmalarla bu durum desteklenmiştir.

Bu çalışmanın, KBY'deki mortalite etmenlerinin moleküler düzeydeki sürecinin aydınlatılmasına ve yeni teşhis, tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine yardımcı olması ümit edilmektedir.

**Bilim Kodu** : 203.1.104

**Anahtar Kelimeler** : Kronik böbrek yetmezliği, polimorfizm, interlökin-4, interlökin-6

**Sayfa Adedi** : 112

**Tez Yöneticisi** : Prof. Dr. Leyla AÇIK

# **IL-4 AND IL-6 GENE POLYMORPHISMS IN CHRONIC RENAL FAILURE PATIENTS**

**(M. Sc. Thesis)**

**Nagehan RAMAZANOĞLU**

**GAZI UNIVERSITY  
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY**

**August 2012**

## **ABSTRACT**

**Chronic kidney disease (CKD), defined as the irreversible loss of renal function, that occurs due to the chronic, renal or systemic diseases, is a major public health problem which has become epidemic in Turkey and the world. Various complications, particularly cardiovascular diseases (CVD), which increase mortality are observed in CKD patients, who are undergoing dialysis treatment. In the past studies, it has been proposed that a set of environmental and genetic factors trigger the formation of progressive kidney damage and complications. One of these factors is inflammation, which develops as a result of a number of mechanisms in which interleukin 4 (IL-4) and interleukin 6 (IL-6) cytokines take part. Although previous researches have shown that cardiovascular complications are related to serum levels of IL-4 and IL-6, contradictory results have been deduced in different populations about the relationship of polymorphisms in these cytokine genes with the chronic or systemic disease.**

**The purpose of this study is to describe the relation of IL-4 intron 3 and IL-6 -174 G/C gene polymorphisms with chronic renal failure. In addition, it has been searched if there is a connection of the genotypes**

that were analyzed with the clinical and laboratory findings of the disease.

For this purpose, determining the distribution of genotypes and alleles of the genes IL-4 intron 3 and IL-6-174 G/C of 137 chronic renal failure patients and 106 healthy control subjects, the relation of these distributions with a number of complete blood count and biochemical parameters were investigated. Identified gene alleles IL-4 intron 3 or genotypes have been found not to have a relation with chronic renal failure or clinical outcome. A statistically meaningful difference between the genotype distributions of IL-6 -174 G/C is detected, and this result is supported with comparisons made through clinical and laboratory findings.

We hope that this study will help to elucidate the molecular-level processes of the mortality factors of chronic renal failure, and also help to develop novel techniques of diagnosis and treatment.

**Science Code** : 203.1.104

**Keywords** : Chronic renal failure, polymorphism, interleukin-4, interleukin-6

**Page Number** : 112

**Adviser** : Prof. Dr. Leyla AÇIK

## TEŞEKKÜRLER

Yüksek lisans çalışmalarına başladığım ilk günden beri, bu tezin hazırlanmasının her aşamasında değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren, bilgi ve tecrübelerini paylaşan, akademik çalışma yaşamını örnek aldığım değerli tez danışmanım sayın Prof. Dr. Leyla AÇIK'a,

Tez çalışmam süresince vakit ayırıp, değerli fikirleriyle katkıda bulunan Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi sayın Prof. Dr. Kadriye ALTOK'a ve çalışmanın gerçekleşmesi için gerekli materyallerin temini konusunda yardımcı olan Uzm. Dr. Serpil Müge DEĞER'e,

DeneySEL ve istatİksel çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Yağmur ÖNER'e ve Dr. Cihan AKSOP'a,

Tarifi imkansız destekleriyle hayatımın her anında yanımda olan, sevgili annem, babam ve ağabeyime,

En içten teşekkürlerimi sunarım.



## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜRLER.....	viii
İÇİNDEKİLER .....	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	3
2.1. Kronik Böbrek Yetmezliği.....	3
2.1.1. Klinik özellikleri ve komplikasyonlar.....	4
2.1.2. Kardiyovasküler hastalıklar.....	8
2.1.3. Ateroskleroz .....	9
2.1.4. Yüksek tansiyon .....	10
2.1.5. Diğer komplikasyonlar .....	10
2.2. Kronik Böbrek Yetmezliği ve Genetik.....	12
2.3. Sitokinlerin İlerleyici Böbrek Hasarındaki Rolü .....	13
2.3.1. Sitokin tedavi stratejileri.....	14
2.4. Polimorfizm.....	16
2.4.1. Tek nükleotid polimorfizmi (SNP) .....	18
2.4.2. Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP) .....	19
2.4.3. Değişken sayıda ardışık tekrar polimorfizmi (VNTR) .....	20

	<b>Sayfa</b>
2.4.4. Kısa ardışık tekrar polimorfizmi (STR).....	20
2.4.5. Aday genler, polimorfizmin seçimi ve kısıtlar .....	20
2.5. SDBY’de Genetik Varyasyonlar .....	24
2.6. Sitokin Gen Polimorfizmleri.....	28
2.6.1. İnterlökin 4 (IL-4) .....	29
2.6.2. İnterlökin 6 (IL-6) .....	37
2.7. Moleküler Teknikler.....	46
2.7.1. Polimeraz zincir reaksiyonu .....	46
2.7.2. PZR sonrası PZR ürünlerini çalışma .....	50
3. MATERYAL ve METOD.....	52
3.1. Materyal.....	52
3.1.1. Kan örneklerinin toplanması .....	52
3.1.2. Tampon ve çözeltiler .....	52
3.1.3. Laboratuvar gereçleri.....	55
3.2. Metot.....	55
3.2.1. DNA izolasyonu.....	55
3.2.2. Polimeraz zincir reaksiyonu .....	57
3.2.3. Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP) analizi.....	58
3.2.4. Agaroz jel elektroforezi .....	59
3.2.5. İstatistiksel analizler.....	59
4. DENEYSEL BULGULAR .....	61
4.1. Laboratuvar ve Klinik Bulgular .....	61
4.2. Moleküler Genetik Analiz Bulguları .....	63
4.2.1. IL-4 intron 3 VNTR polimorfizmi sonuçları .....	63

	<b>Sayfa</b>
4.2.2. IL-6 -174 G/C gen polimorfizmi sonuçları .....	69
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	80
KAYNAKLAR.....	84
EKLER .....	100
EK- 1. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kurumsal Araştırma Değerlendirme Komisyonu araştırma başvurusu onayı .....	101
EK- 2. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kurumsal Araştırma Değerlendirme Komisyonu tarafından onaylanmış bilgilendirilmiş gönüllü olur formu .....	102
ÖZGEÇMİŞ.....	112

## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Kronik böbrek hastalığının evreleri [77].....	5
Çizelge 2.2. Son dönem böbrek yetmezliği sebepleri [34]. ....	7
Çizelge 2.3. KBY'de polimorfizm çalışması yapılan genler .....	26
Çizelge 3.1. Bu çalışmada laboratuvarda kullanılan gereç ve modelleri. ....	55
Çizelge 3.2. IL-4 intron 3 PZR koşulları .....	57
Çizelge 3.3. IL-6-174 G/C PZR koşulları .....	58
Çizelge 4.1. Hasta ve kontrol grubu laboratuvar bulgularının <i>Mann-Whitney U Testi</i> ile karşılaştırılması .....	61
Çizelge 4.2. KBY hasta ve kontrol gruplarının genel özellikleri .....	62
Çizelge 4.3. İlgili polimorfik bölgede yapılan analiz sonucuna göre gözlenen genotiplerin dağılım oranları .....	65
Çizelge 4.4. IL-4 intron 3 VNTR allel dağılımı .....	65
Çizelge 4.5. IL-4 intron 3 VNTR allel dağılımına göre <i>Fisher Kesin Testi</i> sonuçları .....	66
Çizelge 4.6. KBY hasta ve kontrol gruplarında IL-4 intron 3 VNTR genotip dağılımlarının klinik ve laboratuvar bulgularıyla karşılaştırılması .....	67
Çizelge 4.7. KBY hasta grubunun klinik tablosunun IL-4 intron 3 VNTR genotipleriyle karşılaştırılması .....	69
Çizelge 4.8. KBY hastalarında ve kontrol grubunda IL-6 -174 G/C genotiplerinin dağılımı .....	71
Çizelge 4.9. IL-6 -174 bölgesindeki G ve C allelerinin KBY hasta ve kontrol gruplarına göre karşılaştırılması .....	71
Çizelge 4.10. IL-6 -174 G/C genotip dağılımının hasta ve kontrol gruplarıyla karşılaştırılması .....	72

<b>Çizelge</b>	<b>Sayfa</b>
Çizelge 4.11. KBY hasta grubunun klinik tablosunun IL-6 -174 G/C genotipleriyle karşılaştırılması.....	78
Çizelge 4.12. KBY hasta ve kontrol gruplarında IL-4 intron 3 ve IL-6 -174 G/C genotiplerin dağılımı .....	79

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
Şekil 2.1. Pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar sitokinlerin diyaliz hastalarında hayatta kalma oranına olan etkisi [36]. .....	14
Şekil 2.2. Genetik polimorfizmin etkileri [99]. .....	17
Şekil 2.3. Dört farklı bireye ait genom dizilerindeki SNP profilinin, bir ilaca verilecek cevabı önceden saptamada nasıl yardımcı olabileceğinin şematik gösterilmesi [85]. .....	19
Şekil 2.4. İnsanda IL-4 molekülü. $\alpha$ sarmalları mavi, $\beta$ bağları ise turuncu ile gösterilmiştir [144]. .....	30
Şekil 2.5. IL-4 gen konumu [57]. .....	30
Şekil 2.6. Rekombinant, insan interlekin 4'ün kristal yapısı [114]. .....	31
Şekil 2.7. IL-4'ü kodlayan gendeki haplotip I ve II. .....	37
Şekil 2.8. İnsanda IL-6'nın kristal yapısı [113]. .....	38
Şekil 2.9. IL-6 gen konumu [58]. .....	38
Şekil 2.10. Polimeraz zincir reaksiyonunun döngüsel aşamaları ve basamakları [85]. .....	48
Şekil 2.11. Primer fonksiyonları [85]. .....	49
Şekil 4.1. KBY hasta grubunun birincil hastalıkları .....	63
Şekil 4.2. IL-4 intron 3 bölgesi PZR sonuçlarının agaroz jel görüntüsü .....	64
Şekil 4.3. IL-6-174 G/C bölgesi PZR-RFLP sonuçlarının agaroz jel görüntüsü .....	70
Şekil 4.4. BUN değerinin IL-6 -174 G/C polimorfik genotiplerindeki değerleri. Kırmızı yuvarlak ortalama değerleri göstermektedir. ....	75
Şekil 4.5. Kreatininin IL-6 -174 G/C polimorfik genotiplerindeki değerleri. Kırmızı yuvarlak ortalamayı göstermektedir. ....	76
Şekil 4.6. Kandaki Ca değerinin IL-6 -174 G/C polimorfik genotiplerindeki değerleri. Kırmızı yuvarlak ortalamayı göstermektedir. ....	77

## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu tez çalışmasında kullanılmış bazı simge ve kısaltmalar açıklamalarıyla birlikte aşağıda sunulmuştur.

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
$\chi^2$	Ki-kare
<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
<b>ACE</b>	Angiotensin dönüştürücü enzim
<b>AGT</b>	Angiotensinojen
<b>bç</b>	Baz çifti
<b>C</b>	Sitozin
<b>CRP</b>	C-reaktif proteini
<b>dk</b>	dakika
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik asit
<b>dNTP</b>	Deoksinükleozit trifosfat
<b>EDTA</b>	Etilendiamin tetraasetik asit
<b>ELISA</b>	Enzimle bağlanmış immünosorbent deneyi
<b>G</b>	Guanin
<b>GA</b>	Güven aralığı

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
<b>GFR</b>	Glomerüler filtrasyon hızı
<b>GWAS</b>	Tüm-genom ilişki çalışmaları
<b>HCl</b>	Hidroklorik asit
<b>HD</b>	Hemodiyaliz
<b>HDL</b>	Yüksek dansiteli lipoprotein
<b>IgA</b>	İmmunoglobulin A
<b>IgE</b>	İmmunoglobulin E
<b>IL</b>	İnterlökin
<b>KBH</b>	Kronik böbrek hastalığı
<b>KBY</b>	Kronik böbrek yetmezliği
<b>Kt/V<sub>üre</sub></b>	Kreatinin/ Üre hacmi
<b>KVH</b>	Kardiyovasküler hastalık
<b>LD</b>	Bağlantı-eşitsizlik çalışmaları
<b>LDL</b>	Düşük dansiteli lipoprotein
<b>M</b>	Molar
<b>mg</b>	miligram
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	Magnezyum klorür



<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
<b>MHC</b>	Büyük doku uygunluk kompleksi
<b>MI</b>	Miyokard infarktüsü
<b>ml</b>	mililitre
<b>mM</b>	milimolar
<b>Na</b>	Sodyum
<b>NaCH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub></b>	Sodyum asetat
<b>NaCl</b>	Sodyum klorür
<b>NH<sub>4</sub>Cl</b>	Amonyum klorür
<b>OR</b>	Odd ratio (risk oranı)
<b>PAI</b>	Plazminojen aktivatör inhibitörü
<b>PD</b>	Periton diyalizi
<b>PEW</b>	Protein enerji kaybı
<b>PTH</b>	Parathormon
<b>PZR</b>	Polimeraz zincir reaksiyonu
<b>RA</b>	Römotoid artrit
<b>RE</b>	Restriksiyon enzimi
<b>RFLP</b>	Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
<b>rpm</b>	Dakikadaki devir sayısı
<b>sd</b>	Serbestlik derecesi
<b>SDBY</b>	Son dönem böbrek yetmezliği
<b>SDS</b>	Sodyum dode sülfat
<b>SNP</b>	Tek nükleotid polimorfizmi
<b>SS</b>	Standart sapma
<b>STE</b>	Sodyum klorid Tris EDTA
<b>STR</b>	Kısa ardışık tekrar polimorfizmi
<b>TAE</b>	Tris Asetat EDTA
<b>TE</b>	Tris EDTA
<b>TF</b>	Transkripsiyon Faktörü
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Tümör nekrozis faktör-alfa
<b>Tm</b>	Erime sıcaklığı
<b>V</b>	Volt
<b>VEGF</b>	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
<b>VKİ</b>	Vücut kütle indeksi
<b>VNTR</b>	Değişken sayıda ardışık tekrar dizisi

## 1. GİRİŞ

Kronik böbrek yetmezliği (KBY) böbrek fonksiyonlarının dönüşümsüz kaybı sonucu meydana gelen ve hastaların yaşam kalitesini ciddi şekilde etkileyen bir hastalıktır. Özellikle son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) safhasına gelmiş hastalarda uygulanan tedavi yöntemleri (diyaliz veya organ nakli) hem maddi, hem de yaşam koşulları açısından toplumsal yönüyle önemli bir sorun teşkil etmektedir [6, 49, 74].

KBY'de mortaliteye sebebiyet veren başlıca komplikasyonlardan olan kardiyovasküler hastalıklar (KVH), patolojik etmenlerin yanı sıra bireysel farklılıkların da etkin olduğu bir dizi biyolojik mekanizmanın fonksiyonu ile meydana gelir. Özellikle hastalığın ilerleyişiyle ortaya çıkan kronik inflamasyon, CRP ve bir takım pro-inflamatuar sitokin seviyesinin yükselmesi sonucu oluşur. SDBY hastalarında inflamatuvar yanıtta birbirine zıt etkide rol oynayan interlökin 4 (IL-4) ve interlökin 6 (IL-6) serum seviyeleri araştırılmış olup [11, 127], bu sitokinlerin üretimini ifade eden gen bölgelerindeki değişimlerin doğrudan ya da dolaylı olarak hastalıkla ilişkilendirilebileceği öne sürülmüştür [25].

İnsan genomundaki pek çok gen dizisinin bireyler arasında polimorfik varyasyonlar gösterdiği bilinmektedir. Polimorfizmler bir genin kodlanan veya kodlanmayan kısımlarında, tek baz çiftini içeren değişimler (SNP), delesyon ya da insersiyonlar, tekrar eden kısa DNA dizilerinin tekrar sayılarındaki değişimler (VNTR) olarak karşımıza çıkar. Bu polimorfizmler gen ifadesinde, mRNA'nın devamlılığında, oluşan protein ürününün yapısında ve verimliliğinde farklılıklara yol açabilirler. Bu yönüyle de pek çok hastalığa yatkınlığın ya da hastalığın şiddetinin, akıbetinin belirlenmesinde kullanılabilirler [40].

Bu çalıřmanın amacı, KBY'de rol aldıđı dűřűnűlen IL-4 ve IL-6 proteinlerini kodlayan gen bűlgelerindeki polimorfizmlerin, toplumumuzda gűrűlme sıklıđını ve hastalıkla iliřkisini ortaya koymaktır. Bir diđer amacı ise, hasta ve sađlıklı kontrol gruplarında belirlenen genotipler ile klinik ve laboratuvar bulguları arasındaki bađlantıyı analiz edilip, bu iliřkinin kardiyovaskűler komplikasyonların oluřumundaki olası etkisini incelemektir.

## 2. GENEL BİLGİLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. Kronik Böbrek Yetmezliği

Kronik böbrek hastalığı (KBH), dünyada ve ülkemizde epidemik halini almış, kronik, renal veya sistemik hastalıklara bağlı olarak böbrek fonksiyonlarının dönüşümsüz kaybı ile karakterize olan önemli bir halk sağlığı sorunudur. Giderek artan sıklığı, yol açtığı yüksek morbidite ve mortalite oranları ve bunlarla birlikte yaşam kalitesini ciddi şekilde etkilemesi nedeniyle toplumsal yükü büyük olan bir hastalıktır [6].

Kronik böbrek yetmezliği (KBY), glomerül filtrasyon değerinin (GFR) 80 ml/dk'nın altına inmesi olarak tanımlanır [5]. GFR'nin geriye dönüşsüz bir şekilde azalması, gelişmekte olan KBY'nin en önemli göstergesidir [123] ve etken ajan ortadan kalksa bile hastalık progresif seyretmekte ve son dönem böbrek yetmezliğine (SDBY) doğru ilerleme göstermektedir [77]. Son dönem böbrek yetmezliği olan hastalar, yaşam kalitesinin iyi olabilmesi için uzun dönem ve düzenli olarak hemodiyaliz tedavisine gereksinim duymaktadırlar [139].

Ülkelerin 2007 yılına ait SDBY prevalanslarına bakıldığında listenin başında Tayvan, Japonya ve ABD yer almaktadır. Ülkemizde ise Türk Nefroloji Derneği kayıtlarına göre 2009 yıl sonu itibarıyla hemodiyaliz (HD) programında 42707, periton diyaliz (PD) programında ise 4626 kayıtlı hasta bulunmakta olup [132], yıllık ortalama %12'lik artış hızına sahiptir [6]. Birleşik Krallık'ta SDBY görülme oranı 20 yıl öncesine göre iki katına çıkmış olup, pek çok gelişmiş ülkede de yıllık %5-8 oranında artış göstermesi beklenmektedir. Bu artışa etki eden iki önemli etmen bulunmaktadır; popülasyondaki yaşlı nüfusun artışı ve tip 2 diyabet mellitusun dünya genelinde epidemik hale gelmesidir [47]. Kronik böbrek yetmezliğinin gelişim sürecini etkileyen diğer etmenleri ise yaş, cinsiyet, ırk, genetik, proteinüri, lipidler, hipertansiyon, sigara vb. şeklinde sıralayabiliriz [5].

KBY'de renal zararı durdurmaya ya da süreci tersine çevirmeye yönelik tedaviler deney aşamasında kalmıştır ve uygulamaya geçirilememiştir. Günümüzde daha çok hayatta kalan nefronların korunmasına dair önlemler alınmaktadır [34]. Ülkemizde KBY için gereken organ naklinin yüksek maliyeti nedeniyle, hastalar hayat boyu hemodiyaliz ya da periton diyaliz tedavisine bağımlı olarak yaşamlarını sürdürürler [6, 49].

Hemodiyaliz, böbrek yetmezliği sebebiyle böbrek fonksiyonlarını kaybeden hastaların hayatlarını devam ettirebilmeleri için vücutta oluşan toksik madde ve sıvıların vücuttan atılmalarını sağlayan bir tedavi yöntemidir. Özel membranlar ile hasta kanı makineler aracılığı ile temizlenir. Hemodiyaliz işleminin gerçekleşmesi için yeterli kan akımı, bir membran ve hemodiyaliz makinesi sağlanmalıdır. Hemodiyaliz tedavisi hastanın böbrek yetmezliğinin şiddetine, çıkardığı idrar miktarına bağlı olmak üzere haftada 2 - 3 kez, 4 - 6 saat süre ile uygulanır [8].

Diyaliz teknolojisindeki hızlı gelişmelere rağmen Kuzey Amerika ve Avrupa'daki SDBY hastaları düzenli HD ve PD'ye maruz kalmakta, bu tedaviler ise başta kardiyovasküler hastalıklar olmak üzere pek çok komplikasyona sebebiyet vermektedir [98]. Diğer bir sorun ise pek çok SDBY hastasının kötü hayat şartlarında yaşamlarına devam ediyor olma zorunluluğudur. Bununla birlikte böbrek nakli tedavisi gören hastalarda ise mortalite oranının yıl başına %20'in altında kalması sağlanamamıştır [74]. ABD'de 65-74 yaş aralığında renal yenileme terapi programına (hemodiyaliz, periton diyalizi ya da böbrek nakli) başlayan hastaların %30'unun ilk yıl hayatlarını kaybettiği belirtilmiştir [118].

### **2.1.1. Klinik özellikleri ve komplikasyonlar**

KBY, GFR'ye göre evrelendirilebilir (Çizelge 2.1). Üremi varlığında ilk belirtiler iştahsızlık, bulantı, kusma, halsizlik, kilo kaybı, bilinç düzeyindeki değişiklikler, kaşıntı, nefes darlığı, bacaklarda huzursuzluk hissi, perikardit,

kanama gibi çeşitli doku ve organ sisteminin üremik havuzdan etkilenmeleri sonucu ortaya çıkar. Özellikle yaşlı olgular düşük üre düzeylerinde (100-120 mg/dl) dahi bu belirtileri gösterirken bazı olgular yüksek üre düzeylerinde (200-250 mg/dl) bile asemptomatik kalabilmektedir [5].

Çizelge 2.1. Kronik böbrek hastalığının evreleri [77].

Evre	Klinik Tanım	GFR (mL/dk/1,73 m <sup>2</sup> )	Değerlendirme ve Tedavi
1	Normal GFR	≥ 90	Birincil hastalık, kardiyovasküler hastalık riski
2	Düşük derecede azalmış GFR	60-89	Hiperparatiroidizmin erken evresi, KBH'nın ilerlemesi
3	Orta derecede azalmış GFR	30-59	Anemi, dislipidemi, hücre dışı sıvı hacmi
4	Çok düşük GFR	15-29	Elektrolit bozuklukları, diyaliz ve organ nakli için uygunluk
5	Böbrek Yetmezliği	< 15 ya da diyaliz	İleri KBY ve diyaliz komplikasyonları

Kronik böbrek yetmezliğinde temeldeki böbrek hastalığı ne olursa olsun histolojik incelemede glomeruler skleroz, hücreler arası matriks artışı, periglomeruler ve interstisiyel fibrozis, tübüler atrofi gözlenir. Bu durumda birincil hastalıktan bağımsız olarak ilerleyici böbrek hasarında başka mekanizmaların rol aldığı düşünülmektedir. Bundan dolayı evreler arasındaki ilerleyici böbrek hasarı, yüksek tansiyon, hızlanmış lokal ateroskleroz, hipertrofi ve bu hastalıkların mekanizmalarıyla ilişkili büyüme faktörleri ile açıklanmaya çalışılmıştır [77].

Laboratuvar bazlı yapılan bir çalışmada SDBY'de mortaliteye etki ettiği belirtilen 128 etmen değerlendirilmiş ve etki sırasına göre aşağıda adı geçen dokuz tanesinin mortaliteyle çok anlamlı bir ilişkisi olduğu ortaya konmuştur.

1. Tümör nekrozis faktör-  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )
2. Hematokrit
3. İnterlökin-6
4. Troponin T
5. Kreatinin/ Üre hacmi (Kt/V<sub>üre</sub>)
6. Prealbumin
7. Üre azalma oranı
8. Serum albumin
9. C-reaktif proteini [43].

Kronik böbrek yetmezliğine sebebiyet veren klinik durumlar üzerine yapılan araştırmalar, hastalık nedenlerinin etnik gruplar arasında farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur [34].

SDBY'in oluşmasında pay sahibi olan hastalıklar gösterilmiştir (Çizelge 2.2).

İlerleyici böbrek hasarının oluşum mekanizmaları henüz yeterince aydınlatılamamıştır. Hastalığın ilerlediği dönem süresince nefron sayısı azaldığı gibi sağlam kalan nefronlarda da anatomik ve fonksiyonel adaptasyon dönemi başlamaktadır [2].



Çizelge 2.2. Son dönem böbrek yetmezliği sebepleri [34].

Hastalık	Oran (%)
Diabetes mellitus	30
Kronik glomerulonefrit	20
Yüksek tansiyon	20
Polikistik böbrek	10
Pyelonefrit / refluks nefropati	5
Dokular arası nefrit	5
Diğer	15

Obezite, genel populasyon için güçlü bir risk faktörü olarak tanımlanmasına rağmen, yüksek vücut kitle indeksinin (VKİ) SDBY için koruyucu olabileceği tartışılmaktadır [72]. Hemodiyaliz hastaları genellikle düşük VKİ değerine sahiptir ve bu durum mortalite riskini yükseltir [79, 80]. Ağırlığın KBY hastalarındaki klinik duruma olumlu/olumsuz katkısı kontrollü gruplarla araştırılmadığı için bu konuda kesin yargıya varılamamakla birlikte, yükselen VKİ değerinin hemodiyaliz hastalarında hayatta kalma oranını etkilediği gösterilmiştir [146].

Bunların yanında düşük D vitamini seviyesi ile hemoglobin seviyesi KBH hastalarında kardiyovasküler mortalite ile ilişkilendirilmiştir [86, 111].

Bir diğer mortalite sebebi olan mineral metabolizmasıyla ilgili bozukluklar (hiperfosfotemi, hiperkalsemi vb.) gerekli önemler alınarak düzeltilebilir. Bu bozukluklar kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili mortaliteye etki ettiği için tedavisine önem verilmelidir. Serum fosforundaki mineral değişiklikler doğrudan beslenme şartlarıyla ilgilidir, bu yüzden bu şartların iyileştirilmesi

tedavinin önemli bir parçasıdır [20]. Ayrıca diyaliz süresinin artırılması fosfat düzeyinin iyileştirilmesine yardımcı olabilir [61]. Buna karşın Foley ve ark. serum kalsiyumun 8.8 mg/dl'den yüksek olmasının yüksek mortalite riskini işaret ettiğini iddia ederken [54], başka bir çalışma ise mortalite ile bir ilişkisi olmadığını belirtmiştir [19].

SDBY hastalarının hemodiyaliz tedavisi gören %35-65'i inflamasyon belirtisi gösterir. İnflamasyon, SDBY hastalarında görülen komplikasyonların başlıca sebeplerinden biridir [137].

### **2.1.2. Kardiyovasküler hastalıklar**

Kardiyovasküler hastalıklar (KVH) SDBY'de morbidite ve ölüm sebepleri arasında en başta yer almaktadır [33].

Böbrek nakli tedavisinde son yıllarda yaşanan gelişmelere rağmen SDBY hastalarında kardiyovasküler rahatsızlıklardan kaynaklanan morbidite ve mortalite oranları önemli derecede artış göstermiştir [98]. Bunun yanında KVH, diyaliz hastalarında müdahaleyle iyileşimi zor olan bir durumdur. Geleneksel risk faktörleri, örneğin yüksek tansiyon, diabetes mellitus, dislipidemi, sigara kullanımı, obezite, fiziksel inaktivite vb., diyaliz hastalarında genel olarak görülmesine rağmen, bu faktörlerin her biri tek başına KVH'ın yüksek görülme oranını açıklayıcı olamamaktadır. Bu yüzden geleneksel olmayan risk faktörleri olan inflamasyon, damar kireçlenmesi, anemi, beslenme bozukluğu, oksidatif stres ve yükselen lipoprotein seviyesine dair klinik durumlara dikkat çekilmiştir.

KBY ile başlıca mortalite sebebi olan kardiyovasküler hastalıklar arasında sayısız ilişki bulunmaktadır. KBY'nin görülmesindeki artışın ileriki yıllarda kardiyovasküler ilişkili damar hastalıkların yayılımına etki edeceği düşünülmektedir [74].

### 2.1.3. Ateroskleroz

Normal koşullar altında, arter duvarındaki endotelyal hücreler lökositlerin adhezyonuna ve agregasyonuna karşı koyar. Ancak endotelyal doku zarar gördüğünde, düşük yoğunluktaki lipoprotein molekülleri arter duvarından geçer ve damarın intima tabakasından salgılanan enzimler tarafından oksidasyona maruz kalır [100]. Bu süreç düz kas tabakasındaki hücreler ile hücreler arasındaki sıvının artışıyla sonuçlanır. Hastalık ilerledikçe bu artış arter duvarının giderek kalınlaşmasına sebep olur [7].

İnflamasyon SDBY'de ateroskleroz oluşma sürecinde anahtar rol oynamaktadır [100]. Bunun yanında son evredeki hastalarda vasküler ve valvular kalsifikasyonun görünümü doğrudan ateroskleroz ve arteriosklerozisle ilişkilendirilebilir [145].

Son yıllarda yapılan araştırmalar gösteriyor ki DNA tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) gibi genetik faktörler bağışıklık cevabı, inflamatuvar marker seviyelerini önemli derecede etkilediği gibi, SDBY hastalarında ateroskleroze yakalanma sıklığını da etkilemektedir. İnflamasyon belirtileri (IL-10, IL-6 ve TNF- $\alpha$ ) ve benzer diğer faktörleri (apolipoprotein E, TGF ve tefuin-A) kodlayan genlerdeki DNA polimorfizmleri ateroskleroz gelişimini etkiliyor olabileceği yeterli sayıda çalışmada gösterilmiştir [71, 98, 107].

Düşük seviyedeki kalıcı inflamasyon, üremik bir fenotipte yaygın görülen ateroskleroz, depresyon, protein enerji kaybı (PEW), damar kireçlenmesi gibi risk faktörlerini tetikler. Bu nedenle besinsel ve farmakolojik müdahalelerin ana hedefi inflamasyondur [93].

İnflamasyonda görülen bu klinik tablo yetişkin hastalarda olduğu kadar çocuk ve genç yetişkin böbrek yetmezliği hastaları için de geçerlidir. Maalesef erken yaşta KBY tanısı konmuş kişilerde yetişkin tip aterosklerotik KVH'ye yakalanma riski, yetişkinlerinkiyle aynıdır [91].

#### **2.1.4. Yüksek tansiyon**

Fizyolojik olarak böbrekler kan basıncı kontrolü için en önemli mekanizmayı yürütür. Ancak yükselen kan basıncı böbrek fonksiyonlarını etkiler ve uzun süreli yüksek tansiyon natriüresisi (üredeki mevcut sodyum tuzu) azaltır. Bundan dolayı yüksek tansiyon, ortaya çıkan böbrek hasarının hem nedeni, hem de gelişim süreciyle ilişkili bir etmendir [48].

ABD'de Ulusal Böbrek Vakfı Böbrek Hastalığı Sonuçları Kalite İnisiyatifi (K/DOQI) rehberi yüksek tansiyon için uygun tedavi gören hastalarda diyaliz öncesi kan basıncı hedefinin 140/90 mmHg, sonrası için 130/80 mmHg olduğunu belirtmiştir [71, 78].

Diyaliz tedavisi gören hastaların %90'ında yüksek tansiyon görülürken diyaliz sonrası görülen düşük tansiyon için antihipertansif ilaçlar ile tedaviye gidilir [61].

KBY'de karşılaşılan bir diğer kardiyovasküler rahatsızlık olan anjina (göğüs ağrısı) koroner arter hastalığına bağlı olarak anemiyle ağırlaşabilir. Bu yönde şikayeti olan hastalara hemodiyalizden ziyade periton diyalizi tercih edilebilir [61].

KBY'de kardiyovasküler hastalıklara müdahalede önemli olan unsurları, diyet, kan basıncı, proteinüri, diyabette kan şekeri ve dislipidemi kontrolü olarak sıralayabiliriz [47].

#### **2.1.5. Diğer komplikasyonlar**

KBY'de paratiroid hormon, D vitamini, kalsiyum ve fosfat düzeylerindeki değişiklikler kemik histolojisinde farklılaşmaya neden olur ve hastaların yaklaşık %50'sinde yüksek yıkımlı kemik hastalığına sebep olur [61].

KBY'de hiperkalemi, GFR düşüklüğü, diyetle yüksek potasyum alımı, doku yıkımı, metabolik asidozis ve ilaçlar (ACE inhibitörleri vb.) etkisiyle potasyum salınımında meydana gelen dengesizlikle ilgili olarak meydana gelebilir [70].

Anemi diyaliz hastalarının karşılaştığı en önemli komplikasyonlardan biridir. Eritropoietin salgılanmasındaki yetersizlik KBY'deki aneminin en önemli sebebidir. Bunun yanında kanama, demir eksikliği anemisi, eritrosit ömrünün kısalması, diyalizde B12 ve folik asit kaybı, üremik toksinlerin kemik iliğini baskılaması da anemiye yol açan diğer etmenlerdir [39].

Diyaliz hastalarında sıklıkla ortaya çıkan diğer komplikasyonlara örnek olarak tromboz, sepsis, hipoksemi, hemolizi verebiliriz [49, 61].

Diyaliz hastalarının yaklaşık %30-50'si aktif inflamatuvar cevaba sahip olduğuna dair belirtiler gösterir [148]. Populasyon genelinde yapılan bazı çalışmalarda bulgular yükselmiş CRP seviyesinin diyaliz hastalarında inflamasyon kaynaklı mortalitenin sebebi olabileceğini ortaya koymuştur [128]. KBY'de inflamasyon ve vasküler kalsifikasyon biyomarkeri olarak adlandırılan başlıca etmenleri CRP, serum albumin, fibrinojen, beyaz kan hücreleri (polimorfonükleer hücre, monosit, lenfosit), IL-6, IL-1, IL-8, TNF-  $\alpha$  ve serum amiloid A olarak sıralayabiliriz [104].

Nordfors ve ark. yukarıda adı geçen komplikasyonlara maruz kalan SDBY hastalarını beslenme bozukluğu (aşırı zayıflama), iltihaplanma ve ateroskleroz gibi hastalık seyrinde ortaya çıkan rahatsızlıkları nedeniyle metastatik kanser durumuyla karşılaştırmıştır. Ortaya çıkan bu tablo hastalığın altında yatan mekanizmalara hitap etmekten ziyade diyaliz teknolojileri gibi kısmi çözümlere yönelimin sonucu olduğu önerilmiştir. Bu yüzden genetik çalışmalarla sağlanan hızlı bilgi birikiminin bu mekanizmalara açıklık getirebileceği düşünülmektedir [98].

## 2.2. Kronik Böbrek Yetmezliği ve Genetik

Böbrek hastalıklarında genetik, tek genli böbrek rahatsızlıklarından (X-bağılantılı Alport sendromu ve otozomal baskın polikistik böbrek hastalığı gibi) daha karmaşık çok genli hastalıklara (diyabetik nöropati ve IgA nöropati gibi) kadar çok geniş bir alanı ilgilendirmektedir. KBH'nin irsi olarak birikiminin kısmen çevresel etmenlere dayalı olduğu kanıtlanmış olmasına rağmen, eldeki bulgular genetik faktörlerin de bu durumda rol oynadığını göstermektedir. Son yıllarda genomik analizler ve aile tabanlı tarama çalışmaları nefropati duyarlılıktaki genetik faktörlerin rolünün tanımlanmasına büyük oranda yardımcı olmaktadır. Bu bağlamda genetik polimorfizmlerin, akut renal hasarların çeşitli iskemik ve nefrotoksik hasarlara geçişindeki eğilimi açıklayabileceği düşünülmektedir.

KBY hastalarının klinik durumları genetik ve genetik olmayan etkenlerin yükümlülüğündedir. Bu durum, hastaların üremik ortama maruz kalmalarından dolayı genetik etkenlere daha duyarlı olmalarına bağlanabilir [84]. İnsan genom projesindeki gelişme ve yeni moleküler tekniklerin gelişimiyle birlikte, genetik varyasyonları komplikasyonlar, morbidite ve mortalite oranları gibi bireyler arası farklılıklarla ilişkilendirmek artık mümkün görülmektedir. SDBY hastalarının genetik varyasyonlara genel popülasyona kıyasla daha duyarlı olma ihtimali vardır. Etnik, sosyal ve çevresel faktörler, SDBY hastalarında ortak üremik komplikasyonların görülme oranı ve insidansının bireyler arasındaki farklılığını kısmen açıklayabilir. Ancak bu farklılıklar geniş anlamda genetik duyarlılık örnekleriyle de ilişkilendirilebilir. SDBY hastalarının fenotipik profillerinin altında yatan sebepler gen-çevre etkileşiminin karmaşıklığından, her bir hasta için en uygun tedavi stratejisinin kararlaştırılmasının zorluğundan dolayı değişiklik göstermektedir. Son zamanlarda birkaç genetik varyasyonun, özellikle SNP'lerin, bu hasta grubunun genel durumuna ve fenotipine etki edebileceği tanımlanmıştır [98].

### 2.3. Sitokinlerin İlerleyici Böbrek Hasarındaki Rolü

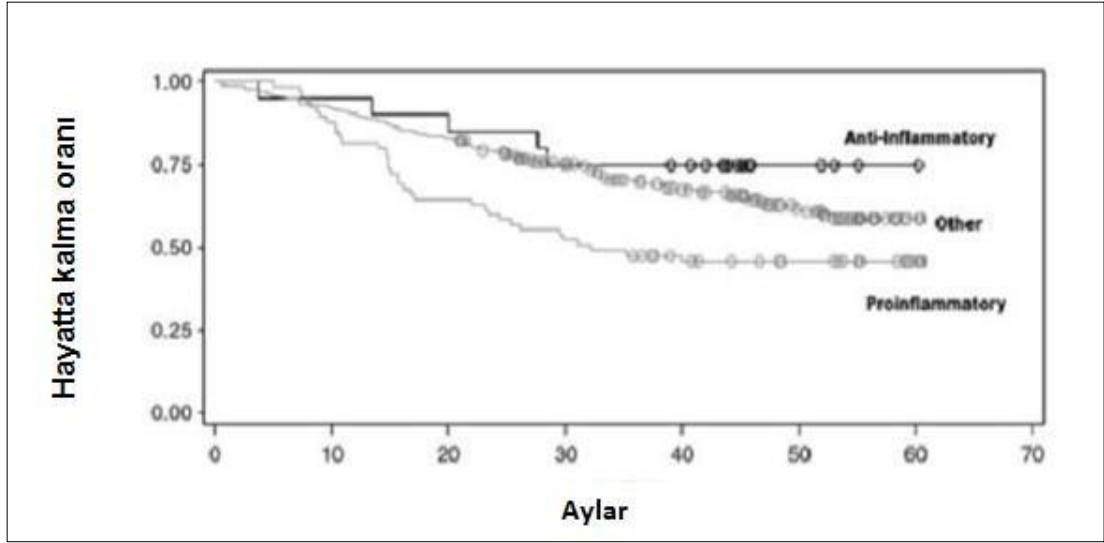
Sitokinler, otokrin ve parakrin olarak immün-düzenlemede, hematopoieziste ve inflamatuvar oluşumunda yer alan çözülebilir polipeptidlerdir [116].

Sitokinler protein ifadesi, transkripsiyon ve translasyon aşamalarında düzenleyici olarak yer alır. Transkripsiyon mRNA'nın genomik DNA kalıbından sentezlendiği süreçtir ve genellikle sitokin genlerinin promotor bölgeleri tarafından kontrol edilir. Bu yüzden bu bölgede meydana gelen SNP'ler, populasyon bazında protein ifadesini değiştirebilir [12].

Böbrek, çoğu sitokinin atılımının yapıldığı yer olmasına rağmen, KBH hastalarında pro-inflamatuvar sitokinler ile onların inhibitörleri arasında çok hassas bir denge bulunmaktadır. Bunun sebebi, diyaliz hastalarında endotoksinlere karşı daha kuvvetli bir sitokin aracılı cevap mekanizmasının gelişmesidir [32].

Tip I ve II sitokinler doku hasarına doğrudan etki etmektedir [75]. Sitokin genlerin promotor bölgesindeki allelik polimorfizmler sitokinlerin ürün olarak tanımlanmasını ve belki de işlevlerini değiştirmektedir [69]. Bu sebeple genlerin kodlanan bölgelerinden en çok promotor bölgesindeki polimorfizmlerine dikkat çekildiği söylenebilir.

Pro-inflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinlerin SDBY'de hayatta kalma oranlarıyla olan ilişkisi Kaplan-Meier analizi ile gösterilmiştir (Şekil 2.1). Yüksek pro-inflamatuvar sitokin (IL-1, IL-6 ve TNF-  $\alpha$ ) örneklerine sahip grubun hayatta kalma oranı, yüksek anti-inflamatuvar sitokin (IL-2, IL-4, IL-5, IL-12) örneklerine sahip gruptan daha düşük bulunmuştur (P=0,0039) [36].



Şekil 2.1. Pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar sitokinlerin diyaliz hastalarında hayatta kalma oranına olan etkisi [36].

Enfeksiyonlara karşı savunmada rol alan genlerdeki mutasyonlar populasyona üretkenlik açısından bir avantaj sağlayabilir. Sitokin gen polimorfizmleri sıklıkla transkripsiyon ve transkripsiyon sonrası aşamalarda meydana geldiğinden işlevsel olarak farklılıklara neden olabilir. Bu sebeple inflammatuar cevap, genetik açıdan niteliksel ve nicel olarak programlanabilir ve bu durum bazı bireylerde güçlü bir yanıt doğururken bazılarında ise aynı uyarana daha ölçülü bir yanıtın oluşmasını sağlar [46].

Bunun yanı sıra yapılan çalışmalarda, IL-4 ve IL-6'nın TH1/TH2 dengesini kontrol eden mekanizmalardaki etkinliğine değinilerek, azalan böbrek işlevinin doğrudan ya da dolaylı yoldan IL-6 seviyesi ve genetik varyantlarıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir [115].

### 2.3.1. Sitokin tedavi stratejileri

Hemodiyaliz tedavisi gören hastalarda yapılan ilaç temelli araştırmalarla özgün olmayan bağışıklık düzenleyici ilaçların SDBY ve kardiyovasküler komplikasyonlara olan etkisi araştırılmıştır [10, 50]. Gelecekte yapılacak çalışmalarla aydınlatılması ve protokole dökülmesi gereken bazı hususlar yer



almasına karşın, KBY'de tedavi sürecini, sitokinlerin yer aldığı aşamayla birlikte kısaca şöyle özetleyebiliriz;

1. Aşama: KBH'de inflamasyona sebebiyet veren hastalıkların tedavi edilmesi:

- Enfektif komplikasyonlar
- Sessiz iskemik kalp hastalığı
- Araya giren diğer klinik vakalar
- Periodontal hastalıklar
- Başarısız böbrek nakli
- Hipervolemi (vücutta aşırı su birikimi)
- İnflamatuvar hastalıklar

2. Aşama: İnflamasyonun diyaliz kaynaklı muhtemel sebeplerinin tedavi edilmesi

- Saf olmayan diyalizat
- Hemodiyaliz kaynaklı enfektif komplikasyonlar
- Pıhtılaşmış kanal ya da doku
- Yetersiz diyaliz
- Uyuşmayan membranlar
- Uyuşmayan diyaliz sıvıları
- Peritonit (karın zarı iltihabı)

### 3. Aşama: Anti-inflamatuar stratejilerini göz önünde bulundurmak

- Beslenmeye müdahale etmek
- Fiziksel eğitim (idman)
- İlaçla müdahale [32].

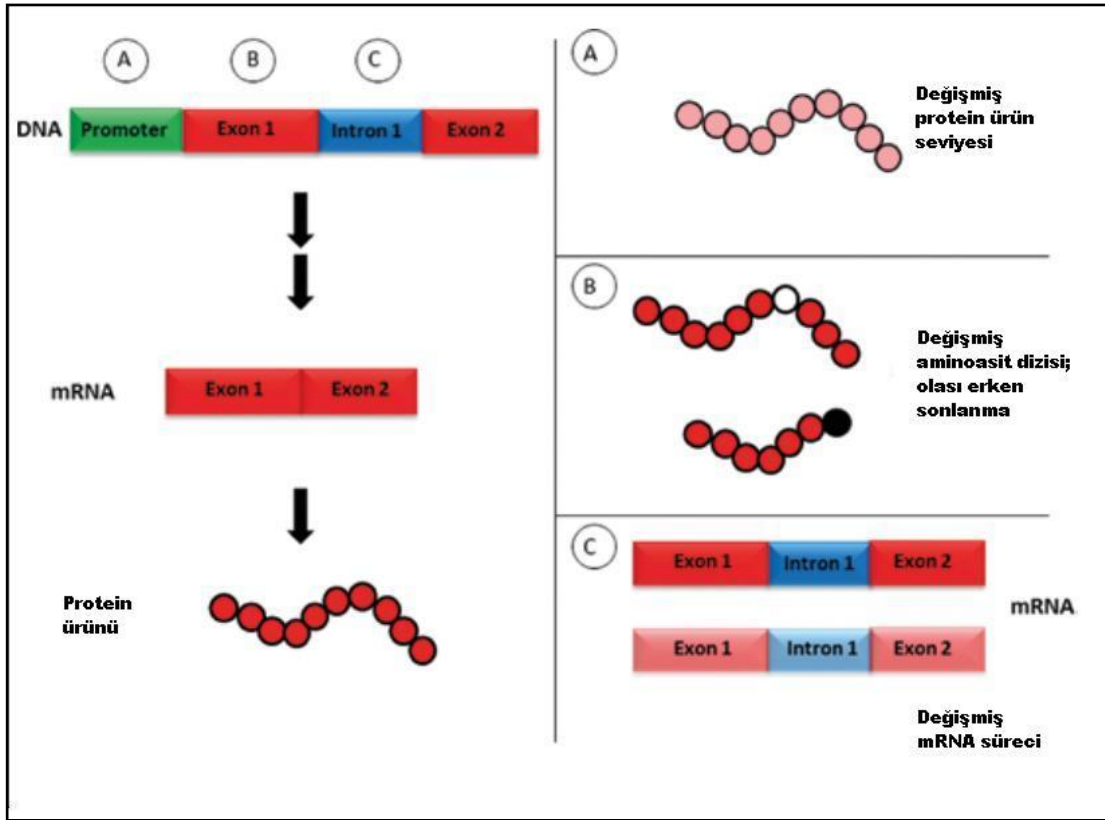
Dolaşımdaki inflamatuvar etmenler, sadece anti-inflamatuar tedavilerin değil aynı zamanda antioksidatif ve anti-wasting (zayıflama karşıtı) tedavi yöntemlerinin de birincil hedefidir. Çünkü bu tedaviler inflamasyonun azaltılmasına yönelik potansiyele sahiptir [93].

Albumin ve prealbumin seviyesinin inflamasyondaki önemi göz önünde bulundurularak ABD’de yapılan bir çalışmada, TNF- $\alpha$  reseptör antagonisti “entanercept” üzerine yapılan bir çalışmada albumin ve prealbumin seviyelerinin placebo grubuna göre anlamlı olduğu sonucu elde edilmiştir [45]. Son yıllarda buna benzer şekilde “hedefe yönelik antisitokin tedavisi” üzerine çalışmalar hız kazanmıştır.

#### 2.4. Polimorfizm

Polimorfizm, populasyonun genelinde %1 veya daha fazla oranda görülen DNA dizi varyasyonlarıdır. Bir özellik açısından seçenekli olan fenotiplerin kuşaklar boyu aynı sıklıkla sürdürülmesine ise dengeli polimorfizm denir. Polimorfik dizi varyantları, genelde gen dizilerinin dışında kalan DNA bölgelerinde yer aldığından belirli bir hastalığa neden olmazlar ancak bazı hastalıklar ile paralellik gösterdikleri durumlarda marker olarak kullanılırlar. Ayrıca genomun %97’sini oluşturan kodlanmayan DNA dizisinde bulunan tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) ilaç metabolizması ile ilaç etki-etkileşimlerinin bireye ve farklı populasyonlara göre anlamlı ilişkiler gösterdiğinin anlaşılması populasyonlara ve bireye özgü ilaçların tasarlanmasına olanak sağlamıştır [15, 85].

Bir polimorfizminin etkisi gende bulunduğu bölgeye bağlıdır (Şekil 2.2). Şekilde görüldüğü üzere, A) Promotor bölgesi transkripsiyon oranını belirlediği için bu bölgede konumlanan bir polimorfizm protein ürününü etkileyebilir. B) Ekzondaki bir polimorfizm, bir aminoasiti bir diğer aminoasite ya da sonlandırma kodonuna dönüştürerek protein ürününü ya da işlevini değiştirebilir. C) İntrondaki bir polimorfizm, intronların silinmesine ya da mRNA moleküllerinin analizinin artmasına, azalmasına sebep olabileceğinden mRNA oluşum sürecini etkileyebilir [99].



Şekil 2.2. Genetik polimorfizmin etkileri [99].

DNA polimorfizmleri, DNA temelli genetik haritalamada marker olarak kullanımları yönüyle çok önemlidir [130].

### 2.4.1. Tek nükleotid polimorfizmi (SNP)

1980'li yıllarda restriksiyon enzimleri kullanılarak, kesme bölgelerinin varlığını ya da eksikliğini göstermek amacıyla fragment uzunluk varyasyonları gözlenmiş ve bu varyasyonlar tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) olarak adlandırılmıştır [22].

İnsan genom projesi kapsamında yapılan DNA klonlama ve dizi analizi çalışmalarında her 100 bazdan birinde polimorfizm olduğu saptanmıştır. Genomda gizli kalmış bu farklılıklar, ilk bakıldığında canlı yaşamı ve çevreye uyumu için gerekli görülmesi de, yaşam süresince canlıyı avantajlı duruma dönüştürecek önyum niteliğindeki varyasyonlardır.

Genom projesiyle tamamı ortaya konacak olan SNP haritası, bu polimorfizmlerin diyabet, kanser vb. yaygın hastalıklarla ilişkisi olan genlerin tanımlanmasında kullanılması beklenmektedir. Böylece bu genlerin ürettiği proteinler yeni geliştirilecek ilaçlar için hedef olabilecektir. Bu ilaçların polimorfizm temeline dayanan çalışmalarla geliştirilecek olması, bireylerin ilaçlara verdikleri farklı yanıtların da moleküler temellerinin aydınlatılması ve ilaç seçiminde dikkate alınacak faktörlerin belirlenmesi yönünden önemli sonuçları olacaktır. Böylece bireylerin genetik yapısına uygun ilaçların seçimi ve kullanımını mümkün olacaktır [85].



Şekil 2.3. Dört farklı bireye ait genom dizilerindeki SNP profilinin, bir ilaca verilecek cevabı önceden saptamada nasıl yardımcı olabileceğinin şematik gösterilmesi [85].

#### 2.4.2. Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP)

DNA'da iki homolog gen arasındaki tek bir baz farklılık, allel oluşumu için yeterlidir. Bu zararsız baz çifti farklılıkları her kromozomda yayılım gösterir ve muhafaza ettiği polimorfik bölgeler genetik haritalamada kullanılabilir [105].

Bu polimorfizmin tespitinde restriksiyon enzimi (RE) ile gen bölgesindeki uzunluk polimorfizmleri incelenir. Protein ürünleri, genin farklı allelik yönlerini yansıttığı için bu türden polimorfizmler, aynı zamanda kesim için dizi özgülüğü taşıyan restriksiyon enzimlerinin ya kesim bölgesini ortadan kaldırarak ya da yeni bir kesim bölgesi yaratarak allelik varyasyonların jel ortamında gösterilmesi amaçlanır [85].

RFLP iki şekilde uygulanabilir;

1. Çalışma yapılacak DNA uygun RE ile kesilir ve southern blot yöntemiyle membrana transfer edilir. DNA denatüre edilerek tek zincirli hale getirilir ve incelenen bölgenin yanındaki tek kopya diziyeye tamamlayıcı olan işaretli proba hibridizasyonu yapılır.
2. İlgilenilen DNA, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılıp RE ile kesilir. Kesim ürünleri uygun şartlardaki agaroz veya poliakrilamid jelde

elektroforezde yürütülür. Hasta ve kontrol grubundan alınan DNA örneklerinin polimorfik bölgeleri böylece incelenip hastalıkla ilişkisi saptanabilir [85].

#### **2.4.3. Değişken sayıda ardışık tekrar polimorfizmi (VNTR)**

İnsan genomunun yaklaşık %5'i kodlanmayan ancak çok sık tekrarlayan DNA dizilerinden oluşturmaktadır. Bu diziler 15-100 bç uzunluğunda olup genlerin içinde ya da arasında bulunabilir [85]. VNTR, 100-300 bç.lik kısa ardışık tekrar dizilerine (STR) bölünebilir [89].

#### **2.4.4. Kısa ardışık tekrar polimorfizmi (STR)**

İnsan genomunda 100.000 kez tekrarı bulunan CA/GT dinükleotidler mikrosatellit ya da kısa ardışık tekrar (SRT) dizileri olarak tanımlanır [85].

#### **2.4.5. Aday genler, polimorfizmin seçimi ve kısıtlar**

Aday genlerin yaygın hastalıklarla ilişkisine dair yapılan araştırmalar, hastalıklardaki ortak genetik varyantların tanımlanması açısından önemlidir. İnsan genomunda yaklaşık 11 milyon SNP'nin bulunduğu tahmin edilmektedir ki bu genomun yaklaşık %1'ini teşkil eder. Bu SNP'lerin kodlanan, bağlantı kavşakları ve promotor bölgelerinde bulunan 250.000 kadarı işlevsel değişikliklere sebep olur [116].

KBY'de polimorfizm çalışmalarının önemi;

1. Bireyler arasındaki inflamatuvar cevaba, renal hasarın ilerlemesine ve KVH'ın oluşumuna yönelik farklılıkları anlamak,
2. Kötü klinik sonuçlara karşı yatkınlıkları bulunan, risk grubundaki KBY hastalarını tanımlamak

3. Hastalığın ilerleyişini durdurmaya ya da gecikmeye yönelik yeni stratejiler geliştirmek

4. KBH hastalarında gelişen KVH'nin etiopatogenezini anlamak [116].

Genetik ilişki çalışmaları doğrudan ve dolaylı olmak üzere iki şekilde yapılabilir. Doğrudan ilişki çalışmalarında, bir hastalıkta rol aldığı düşünülen SNP'nin, hasta bireylerde görülme sıklığının yüksek olup olmadığı araştırılır. Alternatif olan dolaylı yoldan ise, bağlantı-dengesizlik (LD) çalışmalarında birden fazla SNP kullanılarak hasta bireylerde atasal haplotipin zenginleştirildiğine dair bulgular soruşturulur [30].

Genotipleme, programlama ve istatistiksel analizlerdeki gelişmeler, SNP'leri kullanarak tüm genomun taranmasını mümkün kılmıştır. Bunun yanında karışım bağlantı dengesizlik ve tüm-genom ilişki çalışmaları (GWAS) da KBH genlerinin teşhisinde kullanılmaktadır. Bu genlerin teşhisi belirti öncesi hastalık taramalarında ve SDBY'nin gelişim sürecinde yer alan yollara müdahalede ya da yavaşlatılmasında önem arz etmektedir [44].

SDBY hastalarına yönelik genetik çalışmalardaki temel araştırma stratejileri aşağıda verilmiştir.

1) Ailelerde bağlantı çalışmaları

a) Monogenik bozukluklar

b) Bazı mayotik olaylar

c) Mikrosatelit markerlar

2) Populasyon üzerine ortak çalışmalar

a) Çok genli bozukluklar

- b) Mayotik bozuklukların çoğu
- c) İyi tanımlanmış klinik materyal
- d) Yüksek verimli SNP analizi

3) Microarray teknolojileri (DNA çipleri) [98].

Çok faktörlü bozukluklarda, çevresel faktörlerin yanında genler arasındaki karmaşık etkileşim de önemlidir. Ancak spesifik fenotipik bir karakterden sorumlu belirli bir geni tanımlamak zordur. Bunun sebepleri aşağıda verilmiştir.

Çok genli bozukluklar üzerine yapılan çalışmalarda karşılaşılan engeller;

- 1) Genomdaki çok sayıdaki genetik değişiklik, bireylerin karakterize yapısını belirler.
- 2) Bir fenotip birçok genin etkileşimi sonucu oluşabilir.
- 3) Farklı genler aynı fenotipi ortaya çıkarabilir (heterogenetik).
- 4) Bir gen birden fazla farklı fenotipi meydana getirebilir (gen-çevre etkileşimi).
- 5) Tek bir genetik değişiklik fenotipik karakterde sadece küçük bir katılımdan sorumlu olabilir.
- 6) Geniş populasyonların genotiplenmesi tek bir genetik varyasyonun küçük bir katılımının dahi tanımlanmasını sağlamak için gereklidir.

Bu durumda en iyi yaklaşım; kliniksel olarak iyi tanımlanmış hasta materyallerinin aday genlerinin SNP grupları için genotiplenmesine dayanan



ilişki çalışmalarıdır. Bu çalışmalardaki en kritik aşama, araştırma için aday genlerin iyi tanımlanmasıdır. Bağlantı çalışmalarının aksine, aday genlerin ortak çalışmaları belirli bir karakterin patofizyolojik yollarının da iyi bir şekilde anlaşılmasını gerektirir. Belirli bir genetik varyantın spesifik bir fenotipin gelişiminde rol alıp almadığı in vitro ve in vivo deneyler ile tanımlanmalıdır [98].

Bir genin genel yapısına dair temel bir bilgi, hangi polimorfizm analizinin yapılacağına dair karar aşamasında yardımcı olabilir. Bu durumda unutulmamalıdır ki gen büyüklüğü ile organizasyonu arasında büyük farklılıklar olabilir. Çünkü bir tek gen, farklı promotor bölgeleri ve alternatif splaysing ile pek çok ürün kodlayabilir. Bununla birlikte, polimorfizmin hangi bölgede olduğunun bilinmesi genin işlevi üzerine olan etkisinin tanımlanmasını sağlar ve böylece istatistiksel ilişkilerin ardındaki kullanılabilir bilginin anlaşılması ve sonuçların yorumlanmasına imkan tanımış olur. Düzenleyici bölgelerdeki polimorfizmler, örneğin promotor bölgesi, transkripsiyon faktörü bağlayan kısımların değişmesiyle transkripsiyonel aktiviteye ve dolayısıyla gen ürün seviyesine etki edebilir. Kodlanan bölgelerdeki polimorfizmler ise protein ürününe etki etmeyerek sinonim/eş anlamlı (sessiz) ya da nonsens/anlamsız olabilir. Anlamsız mutasyonlar bir aminoasit kodonunu prematur sonlandırma kodonuna dönüştürebilir ve bu durum kesilmiş gen ürünü ortaya çıkmasına sebep olur. Diğer bir seçenek polimorfizm kodlanmayan bölgelerde meydana geldiği halde mRNA sürecine ve değişmezliğine etki edebilmektedir. Buna örnek olarak angiotensin dönüştürücü enzim (ACE) geninin intron 16 bölgesindeki insersiyon/delesyon polimorfizmi verilebilir [98].

Populasyona dayalı vaka-kontrol çalışmalarının sonucunda, gen polimorfizmi ile SDBY'de görülen komplikasyonlar arasında aslında var olmayan yanıltıcı ilişkilerin tespiti gibi riskler mevcuttur. Bu yanıltmaların varlığı belirlenen kriterler ile kontrol edilebilir.

DNA polimorfizmi ile fenotip arasındaki ilişkinin tahlilinde dikkat edilmesi gereken hususlar:

- Materyal sayısının yeterliliği
- Kontrol grubuyla birlikte değerlendirilmesi
- SNP bölgelerinin açık bir şekilde tanımlanmış olması
- Hardy-Weinberg (H-W) hesaplamalarının yapılması ve kontrollerde H-W kriterinin yerine getirilmesi
- Aynı kromozomdaki farklı SNPler arasındaki linkage eşitsizliğinin (LD) değerlendirilmesi
- Eğer yeterli güçte materyal varsa haplotip analizinin yapılması
- Protein ürününün analizinin yapılması
- SNP'nin gen transkripsiyon ya da protein ifadesine etkisinin araştırılması
- Yaş, ırk, cinsiyet ve komorbiditenin çoklu regresyon analizinin yapılması
- Sonuçların diğer hasta grup sonuçlarıyla desteklenmesi [98].

## 2.5. SDBY'de Genetik Varyasyonlar

Genel olarak SDBY'de meydana gelen kronik inflamasyon nedenleri diyaliz kaynaklı ve hasta kaynaklı (genetik) olarak iki grupta değerlendirilebilir. SDBY'nin fenotip görünümü oldukça karmaşıktır ve her bir fenotipin altında yatan nedenin tanımının yapılması ve her hasta için en uygun tedavi yönteminin tanımlanması zordur [48]. Ancak yakın gelecekte hastalığın seyri ya da öngörüye dayalı çoklu gen DNA çalışmalarının, SDBY'ye yakalanma riski yüksek hastalarda ve bu hastaların bireye özgü tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde yardımcı olacağı varsayılmaktadır. Bu nedenle genotip-

fenotip ilişkilerini bütünleştiren ve bunun klinik sonuca olan etkisini araştıran çalışmalar önem arz etmektedir [71, 98].

KBY hastalarında yapılan polimorfizm çalışmalarında, hastalığın seyrine etki eden ve mortaliteye sebep olan komplikasyonlar ön planda tutulur. Bundan dolayı yapılan araştırmaların birçoğu gelişen kardiyovasküler hastalıklar, inflamasyon vb. sorunlara da cevap getirmeyi hedeflemiştir.

SDBY ve kardiyovasküler hastalıklarda (KVH) ailesel birikiminin olması ve özellikle ailesel geçmişe genç hastalarda yaşlılara göre daha fazla rastlanması, genetik etmenlerin hastalık sürecinde etkili olduğunun bir diğer kanıtıdır [121]. Tüm populasyon gruplarında aile geçmişinde SDBY olan kişilerin, bu hastalığa yakalanma riskinin 3-9 kat daha fazla olduğu belirtilmiştir [120].

Diyaliz kaynaklı ya da kaynaklı olmayan pek çok faktörün SDBY'deki kronik inflamasyonla ilişkilendirilebileceğine daha önce de değinilmiştir [148]. Bununla birlikte genetik varyasyonların tanımlanması, kronik inflamasyona daha duyarlı olan bireylerin tespiti ve risk altındaki populasyonlarda kimlerin uygulanan bu agresif tedaviden kazançlı çıkacağını takip etmek açısından alternatif bir yaklaşım olabilir. Diyaliz hastalarında bireysel faktörler inflamasyon işaretlerinin seviyesine önemli derecede etki etmektedir. Bu durumda gözle görülür değişimlerin genetik faktörlerle açıklanabileceği varsayımı ortaya konabilir [98].

Kronik böbrek yetmezliğinde polimorfizm çalışması yapılan genler gösterilmiştir (Çizelge 2.3) [84].

Çizelge 2.3. KBY'de polimorfizm çalışması yapılan genler

Protein ürünü	Gen Polimorfizmi	İlişki
Myeloperoksidaz	-463 G/A	Düşük KVH prevalansı
Angiotensinojen dönüştürücü enzim (ACE)	Intron 16 I/D	Yüksek ACE seviyesi, renal fonksiyonlarda düşüş
Angiotensinojen (AGT)	Met235Thr	Yüksek AGT seviyesi, ciddi KVH riski
Alpha 2-Heremans Schmid glikoprotein (fetuin-A)	Thr256Ser Thr248Met rs1029353 (A/G) rs2593813 (A/G) rs2070632 (C/A)	Düşük fetuin-A seviyesi Koronar arter kireçlenmiş plakaları Koronar arter kireçlenmiş plakaları Koronar arterde kireçlenmiş plakalar Koronar arterde kireçlenmiş plakalar
Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR)	677 C/T	Düşük MTHFR aktivitesi, diyabetik nefropati ve SDBY yönünde ilerleme
İnterlökin-1 $\beta$	-511 C/T -31 C/T	Yükselmiş kas kitlesi ve düşük PEW Yükselmiş kas kitlesi ve düşük PEW
İnterlökin-1 reseptör antagonisti	Intron 286bç VNTR	Koronar arter hastalık riski artışı

Çizelge 2.3. (Devam) KBY'de polimorfizm çalışması yapılan genler

Protein ürünü	Gen Polimorfizmi	İlişki
İnterlökin-6	-174 G/C Asp162Val (A/T)	Yüksek IL-6 seviyesi ve komorbiditede -174 G/C etkisinin muhtemel düzenleyicisi
İnterlökin-10	-1082 A/G	IL-10, fibrinojen ve CRP seviyelerini etkiler, komorbidite ve KVH riski
Tümör nekrozis faktör (TNF- $\alpha$ )	-308 G/A	TNF- $\alpha$ ve serum albumin seviyeleri, komorbidite ve ölüm riski
C-reaktif proteini (CRP)	-717 G/A 1444 C/T	Koroner arter hastalığı ilişkisi Yükselmiş CRP seviyesi
T hücrelerinin ifadesi, salgılanması ve aktivasyonunu düzenleyiciler	-403 G/A -28 G/C İntron 1.1 T/C	SDBY'de koroner arter hastalığı Diyabetik nefropati Düşük gen ifadesi, ölüm riskinde artış
Östrojen reseptör $\alpha$	Ser19ser 30 T/C	Kadınlarda düşük PEW frekansı ve mortalite, yüksek serum albumini vb.

Renin-angiotensin sisteminin böbrek hastalıklarındaki önemi göz önünde bulundurulduğunda, bu sistemi kontrol eden genlerdeki varyasyonların da hastalık sürecine olan etkisi ilgi konusu olmuştur. Yapılan bazı çalışmalarda, angiotensin-dönüştürücü enzim gen polimorfizminin DD-homozigot varyantının hasta grubuyla ilişkilendirileceği düşünülürken [67, 122], 745 SDBY hastasıyla yapılan bir çalışmada ise kontrol grubuyla önemli bir allelik ya da genotip farklılıklar gözlenmemiştir [27]. Aynı çelişkili sonuçlar angiotensin II tip 1 reseptör (AT1R) gen A/C polimorfizmi, angiotensinojen (AGT) geni M235T ve aldosteron sentetaz (CYP11B2) gen polimorfizmleri için de mevcuttur [67, 83, 125].

Hindistan'da SDBY hastalarında yapılan bir araştırmada, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) geni -2578C ve -2549D allellerinin VEGF seviyeleri ile ilişkisi gösterilmiş olup, SDBY oluşumuna etki edebildiği belirtilmiştir [112].

## **2.6. Sitokin Gen Polimorfizmleri**

Sitokinler doğal ve sonradan kazanılmış bağışıklık arasında bağ kurar, lenfositlerin farklılaşmasını etkileyerek immün cevabın özelliklerini belirler ve az sayıda lenfositin mevcut mekanizmaya olan etkisini güçlendirir [29]. Bu nedenle son yıllarda, genetiğin sitokin üretimindeki kontrolü göz önüne alındığında ve bu genlerin çok sayıda SNP içeriyor olması nedeniyle SDBY'de polimorfizm çalışmaları önem kazanmıştır.

Tanımlanan pek çok sitokin genindeki sabit allel varyantlar ile sitokin genlerdeki SNPler, SDBY'de ortaya çıkan inflamasyon ve beraberinde getirdiği komplikasyonlarla ilişkilendirilebilir [98]. Sitokin genlerindeki polimorfizmler transkripsiyonu, sitokin salınımını ve böylece böbrek ile kardiyovasküler hastalıkların ilerleme riskini hafifletebilir [116].

İnsan hastalıkları üzerine yapılan sitokin genetik çalışmaları, hastalık mekanizması ve orijininin anlaşılması açısından önemlidir. Sitokin gen polimorfizmlerinin tespiti ile,

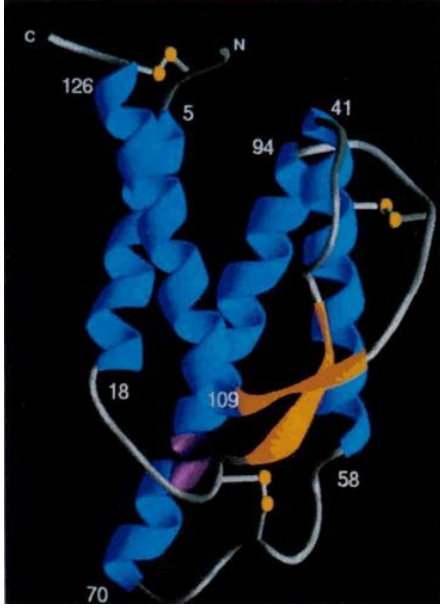
- Bir hastalığa karşı olan duyarlılık, hastalığın seyir şiddeti ve akıbetini etkileyen etmenler tanımlanabilir.
- Terapatik ajanlara cevap veren ve vermeyen potansiyel markerlar tanımlanabilir.
- Yeni terapatik ajanlar geliştirilerek, hastalara uygun immuno-düzenleyici tedavi yöntemleri uygulanabilir.
- Geliştirilmiş aşı vb. yeni koruma stratejileri geliştirilebilir [18, 56].

#### **2.6.1. İnterlökin 4 (IL-4)**

IL-4 ilk olarak 1982 yılında, farelerde EL-4 lenf tümör hücreleri tarafından üretilen ve B hücrelerinin proliferasyonunu uyaran bir sitokin olarak keşfedilmiş ve 'B hücresi büyüme faktörü' olarak adlandırılmıştır [142].

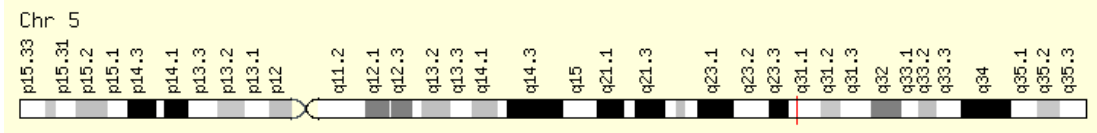
IL-4, tip I sitokinlerden kısa zincirli bir moleküldür. 4  $\alpha$  sarmal demeti birbirine antiparalel konumdadır (Şekil 2.4) ve 3 adet zincirlerarası disülfid bağına sahiptir [106, 144].

IL-4'ün sentezini, antijen sunucu hücrelere sunulan her türlü antijen ve antijen kaynaklı peptidler uyandır. IL-2, IL-4 ve platelet aktive edici faktör (PAF) tarafından salınımı artırılırken, TGF-B ve siklosporin A tarafından baskılanır [9, 102].



Şekil 2.4. İnsanda IL-4 molekülü.  $\alpha$  sarmalları mavi,  $\beta$  bağları ise turuncu ile gösterilmiştir [144].

#### IL-4 geni ve gen ürününün özellikleri:



Şekil 2.5. IL-4 gen konumu [57].

Gen büyüklüğü: yaklaşık 10 Kbç

Bulunduğu kromozom: 5q(23.3-31.2)

Ekzon sayısı: 4

Ekzon 1; 45 aminoasitlik rezidü kodlar

Ekzon 2; 17 aminoasitlik rezidü kodlar



Ekzon 3; 59 aminoasitlik rezidü kodlar

Ekzon 4; 33 aminoasitlik rezidü kodlar

İntron sayısı:3

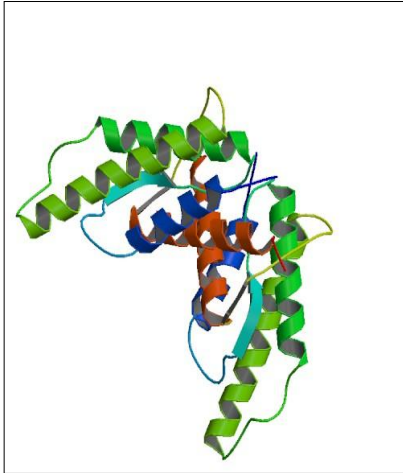
İntron 1; 272 bç uzunluğunda

İntron 2; 5200 bç, TG tekrarları içerir (2966-3077 bölgesinde)

İntron 3; 2577 bç, 3 ardarda tekrar dizisi içerir (70 bç x 3; 7694-7902 bölgesinde).

mRNA büyüklüğü: 0,9 Kbç

Diğer özellikler; 27 bç uzunluğundaki TATA-benzeri dizi, IL-2 genindeki 400 bç.lik TATA kutusuyla benzerlik gösterir [149].



Şekil 2.6. Rekombinant, insan interlökin 4'ün kristal yapısı [114].

IL-4'ün biyolojik etkileri;

T hücreleri/Lenfositler:

1. Genel olarak T hücrelerinin ve lenfositlerin proliferasyonu ve aktivasyonu
2. T hücrelerinin monositler aracılığıyla IFN-gama, TNF-alfa, TNF-beta, GM-CSF üretimini baskılaması
3. Karışık lökosit kültüründe artan sitotoksik T hücre aktivitesi
4. CD4+'da klonlanmış CD8 T hücrelerinin uyarılması
5. IL-2 reseptör ifadesinin baskılanması ve T hücreleri ile T-lökemia hücre sıralarının IL-2 bağımlı proliferasyonunu engellemesi

B hücreleri:

1. B hücrelerinin proliferasyonu ve aktivasyonu
2. IL-2 uyarımlı B hücre proliferasyonunun engellenmesi
3. B hücreleri tarafından etkinleştirilen immunoglobulin (Ig) üretiminin artırılması
4. Pokeweed mitojenleri tarafından uyarılan Ig üretiminin baskılanması
5. Lenfokin uyarımlı IgA sentezinin baskılanması
6. Düşük afiniteli IgE reseptörünün (CD23) uyarımı
7. Sınıf II MHC antijen ifadesinin artırılması

8. sIgM ifadesinin artırılması
9. CD40 ifadesinin artırılması
10. IgE ve IgG4 değişiminin uyarılması

Doğal öldürücü (NK) hücreleri:

1. NK hücrelerinin proliferasyonu ve aktivasyonu
2. IL-2 tarafından uyarılmış IFN-gama üretiminin durdurulması

Lenfokin aktive edilmiş öldürücü (LAK) hücreler:

1. IL-2 uyarımlı sitotoksitenin önlenmesi
2. IL-7 uyarımlı LAK aktivitesinin durdurulması

Burkitt Lenfoma hücreleri:

1. Sınıf II MHC, LFA-1, LFA-3, ICAM-1 ifadesinin artırılması
2. CD23'ün uyarımı

Monositler:

1. Monositlerin farklılaşmasının ve yayılımının uyarımı
2. CD23'ün uyarımı
3. IgG reseptörlerinin ifadesinin uyarımının baskılanması (CD64, CD32, CD16)
4. Antikor aracılı sitotoksitenin baskılanması

5. CD11b/CD18 ve CD11c/CD18 ifadesinin artırılması
6. IL-1a,B, IL-6, IL-8, IL-10, TFN-a GM-CSF ve G-CSF üretiminin baskılanması
7. Fagositozun artırılması
8. Antijen sunum kapasitesinin artırılması
9. IFN-gama uyarımlı H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretiminin engellenmesi

Hematopoetik öncülü hücreler:

1. Eritropoetin varlığında BFUe'yi etkile hale getirmek
2. IL-3, GM-CSF ve M-CSF uyarımlı GM, M ve CFU-karışık koloni formasyonunu baskılamak
3. G-CSF varlığında G-koloni formasyonunu artırmak
4. IL-6 uyarımlı eritroid koloni formasyonunu ve GM'yi etkile hale getirmek
5. IL-3 varlığında mast hücreleri kolonisini etkile hale getirmek

Eozinofil: Sitotoksik işlevliğini ve salımını engellemek

Nötrofil: Fagositoz etkinliğini artırmak

Endotelyal hücreler:

1. Nötrofillerin T hücrelerine tutumunu artırmak
2. Vasküler adhezyon molekül-1'i uyarmak

3. Belirleyici ve artmış ICAM-1 ifadesinin IL-1 ve TNF- $\alpha$  tarafından uyarımını baskılamak [28, 106, 142].

T hücreleri ile diğer hemapoietik hücrelere tanımlı olan 140 kDa ağırlığında iki tip IL-4 reseptörü bulunmaktadır. Biri IL-4R  $\alpha$  zinciri (IL-4R $\alpha$ ) ile IL-2R  $\gamma$  zincirinden ( $\gamma$  c) oluşan tip I IL-4R, diğeri ise IL-4R $\alpha$  ile IL-13R  $\alpha$  1 zincirinden oluşan tip II IL-4R'dir [68, 96]. Reseptörlerinin ilişkilerinden de anlaşılacağı üzere IL-4, IL-13 ile benzer görevlere sahiptir.

IL-4, TNF- $\alpha$  ve IL-6 gibi inflamatuvar sitokinlerinin ve monositler tarafından salgılanan (monokin) parçalayıcı enzimlerin üretimini azaltır [1, 92].

IL-4, IL-1 $\beta$  sentezini azaltabilir ve bu sentezi doğal olarak durduran IL-1 reseptör antagonistini (IL-1ra) uyarır. Bunun yanı sıra TNF- $\alpha$ , PGE2 ve makrofajlardaki 92 kDa gelatinaz üretimini durdurarak immüdüzenleyici olarak görev yapar [24].

#### IL-4'ün klinik faydaları

Kanser tedavisindeki rolü; farelerde ve in vitro koşullarda yapılan çalışmalar, anti-tümör etkisinden dolayı IL-4, solid tümörlerin ve B hücre lenfomalarının büyümesini önleyebilecek bir potansiyele sahip olduğunu göstermiştir.

İnflamasyon ve otoimmün hastalıklardaki rolü; IL-4, monositlerin IL-1a, B, TNF- $\alpha$ , IL-6 ve IL-5 üretimini ve T hücrelerinin TNF-a, B üretimini azaltır. Bundan dolayı IL-4 bu sitokinlerin aracı olduğu inflamasyon süreçlerinde, romatoid artrit gibi immün hastalıklarda, vasküler sızıntı sendromunda (IL-2, LAK hücre terapisi sonucu oluşan), kilo kaybında ve genel olarak inflamasyon cevapta rol oynayabilir [142].

IL-4, IgE sentezinin düzenleyicisi olarak alerjik immün cevapta önemli rol oynadığından [29] parazitlere karşı (özellikle helmintler ve sebep olduğu alerjen duyarlılık) oluşturulan fizyolojik yanıtta yer alır. Bununla birlikte sınıf II

major doku-uyuşmazlığı (MHC) ifadesini uyarır, B hücrelerinde CD23'ün hücre yüzeyindeki ifadesini artırır,  $T_{h2}$  hücrelerinin farklılaşmasında ve immünoglobulin (IgE) sentezinde önemli rol alır.  $T_{h2}$  hücreleri ile IgE sentezine olan etkisi nedeniyle alerjinin yanında astıma karşı oluşturulan immün yanıtta da önemlidir [35, 106, 131, 134].

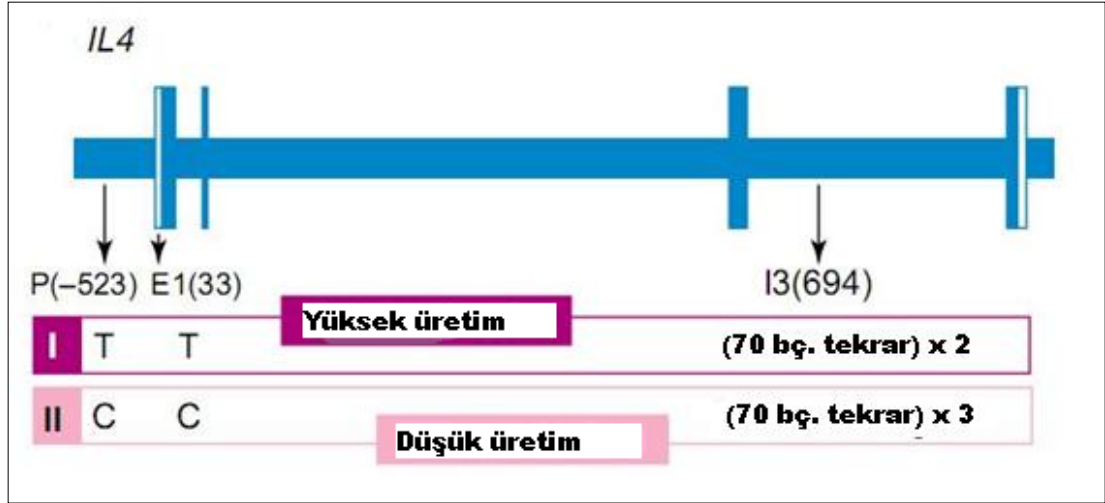
IL-4'ün in vitro ortamda T hücrelerinin proliferasyonunu uyardığı ve çözülebilir IL-4 reseptörlerinin (sIL-4R) farelerde yapılan *in vivo* çalışmalarda kardiyak organ nakli reddini geciktirdiği bilindiğinden beri, IL-4'ün IL-2 yokluğunda doku/organ nakli reddinde aracı olabileceği önerilmiştir. Ancak anti-inflamasyon özelliklerine rağmen IL-4 ve IL-10'un farelerde kardiyak nakil reddini önleyemediği görülmüştür [35].

Miossec ve ark., rekombinant IL-4'ün römötoid artrit (RA) sinoviyal doku organ kültürlerine eklendiğinde pro-inflamatuar sitokin üretiminin durdurulduğunu ortaya koymuştur [37]. Bu gözlem IL-4'ün RA patogenezinde rol alabileceği ve hastalığın tedavisinde terapötik ajan olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

#### IL-4 ile ilgili yapılan polimorfizm çalışmaları

IL-4 geninin 3. intron bölgesinde 70 bç'lik bir değişken sayıda ardışık tekrar dizisi (VNTR) bulunmaktadır [76].

IL-4 geninin promotor ve ekzon bölgelerinde iki önemli SNP bölgesi promotor 1 [P(-523 C/T)] ve ekzon 1 E1[+33 C/T] bulunmaktadır (Şekil 2.7). Şekilde içi dolu mavi kutular ekzonları, boş olanlar kodlanmayan bölgeleri göstermektedir. IL4 geninin -523 C veya T olması ile intron 3 bölgesinin değişken sayıda ardışık tekrar dizisi (VNTR) sayısı IL-4 üretimine etki etmektedir [141].

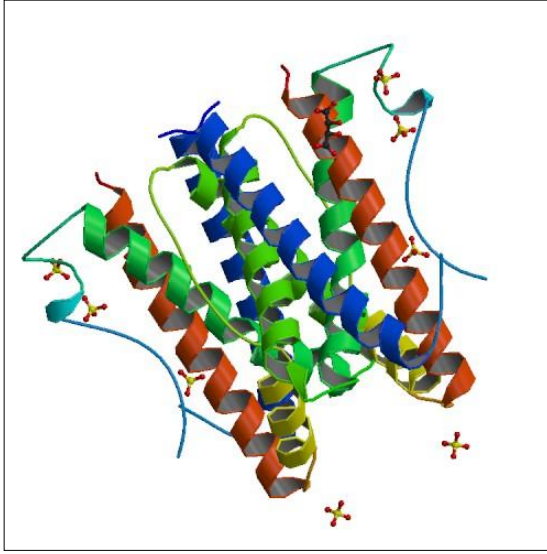


Şekil 2.7. IL-4'ü kodlayan gendeki haplotip I ve II.

IL-4'ün nefropatiye olan etkisi nefropatik tip II diyabet hastalarında yapılan çalışmalarla desteklenmiştir. Yapılan bir araştırmada IL-4 geni -590 C/T polimorfizminin diyabetik nefropatiyle anlamlı bir ilişkisi olduğu belirtilmiştir [4]. Ayrıca Japon popülasyonunda yapılan bir çalışma da IL-4 polimorfizmlerinin IgA nefropati sürecine etki edebileceğini göstermiştir [88].

### 2.6.2. İnterlökin 6 (IL-6)

IL-6, aktive edilmiş T ve B hücreleri ile monosit ve fibroblastlar tarafından üretilen, pleiotropik etki gösteren, TNF- $\alpha$  ile birlikte inflamasyonda aracı rol oynayan bir sitokindir [52].

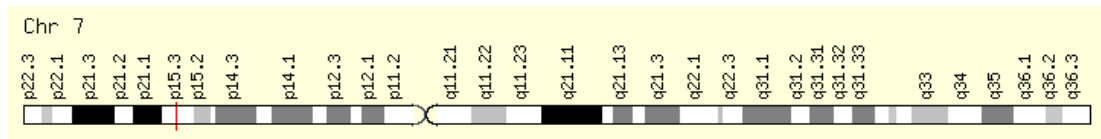


Şekil 2.8. İnsanda IL-6'nın kristal yapısı [113].

IL-6 üretimini uyarıcılar; IL-1, TNF- $\alpha$ , PDGF, IFN- $\beta$ , sikloheksimid, TPA vb.

IL-6 üretimini baskılayanlar; deksametazon (fibroblastlar ve monositler tarafından salgılanır).

#### IL-6 gen yapısı:



Şekil 2.9. IL-6 gen konumu [58].

IL-6 geni kromozom 7q21 üzerinde bulunur ve 303 bç uzunluğunda bir promotor bölgesi içerir [3, 23].

Genin büyüklüğü; 5 Kbç (insan)

Ekzon sayısı: 5



İntron sayısı: 4

Bulunduğu kromozom: 7

IL-6'nın biyolojik etkileri

In vitro etkileri:

1. Myeloma/hybridoma/plazmasitoma hücrelerinin proliferasyonu
2. T hücrelerinin proliferasyonu
3. EBV-transformed B hücrelerinin proliferasyonu
4. Çok yönlü hematopoietik kolonik formasyonun genişlemesi
5. Mesangial hücrelerin proliferasyonu
6. Keratinositlerin proliferasyonu
7. Kaposi sarkoma türevli hücrelerin proliferasyonu
8. Myeloid lösemik hücre sıralarının büyümesinin engellenmesi
9. Göğüs karsinoma hücre sıralarının büyümesinin engellenmesi
10. Spesifik gen ifadelerinin farklılaşmasının uyarılması
  - a) PC12 hücrelerinin nöral farklılaşması
  - b) Sitotoksik T hücrelerinin farklılaşması
  - c) Megakaryosit gelişimi
  - d) Myeloid lösemik hücre dizilerinin makrofaj farklılaşması
  - e) B hücrelerindeki immunoglobulin üretimi

f) Hepatositlerdeki akut faz proteinlerin üretimi

IL-6 proteini, 22-27 kD büyüklüğünde bir polipeptiddir ve aktifleşmiş T ve B hücrelerinden, makrofajlardan, fibroblastlardan, adipositlerden, endotelial hücrelerden salgılanır. Salgılanmasını TNF- $\alpha$ , IL-1b, bakteryal endotoksinler, oksidatif stress gibi uyarıcılar tetikler [42, 64]. Lenfositlerin aktifleştirilmesi ve proliferasyonu, B hücrelerinin farklılaştırılması, lökosit üretimi ve akut faz proteinin indüklemesi yönüyle inflamasyonu tetikler [128]. IL-6 kompleksinin aktive olması Janus kinazları (JAK), sinyal dönüştürücülerini ve transkripsiyon etkinleştiricilerini tetiklediği için hücre proliferasyonunda ve apoptozisin düzenlenmesinde rol alır. Bu yönüyle de inflamasyon kaskatı ile hücre çoğalmasının kontrolünde önemli rol oynar ve dolayısıyla dislipidemi, yüksek tansiyon, diyabet tip II ve kanser gibi rahatsızlıkların mekanizmalarını düzenler [64, 150].

IL-6 poliklonal B hücre aktivasyonu ve otoimmün sendromların patogenezinde önemli rol oynar [28, 52, 133].

IL-6, IL-4 aracılı IgE sentezini ve T<sub>h2</sub> hücre farklılaşmasını desteklemesi yönüyle astımda rol alır [35].

IL-6 pro-inflamatuar özelliğinin yanında anti-inflamatuar ve immunosupresif etki de göstermektedir [63, 108].

IL-6 ve çözülebilir reseptörü sIL-6R seviyesinin major depresif bozukluğu hastalarında önemli derecede arttığı ortaya konmuştur. Bu nedenle IL-6'nın major depresyondaki bağışıklık bozukluklarının patofizyolojisinde ve patogenezinde rol alıyor olabileceği belirtilmiştir [87]. Depresyon hastalarında yükselen IL-6 ile plazmada bulunan kortisol seviyeleri arasındaki korelasyon da IL-6'nın depresif bozukluklarda görev alıyor olabileceği tezini destekler [110].

### IL-6'nın üremik inflamasyondaki rolü

Üremik inflamasyonla ilişkili pek çok etmen tanımlanmış olmasına rağmen, bunların etki mekanizmaları hala tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Klinik bulgular ana etmenin yükselmiş C-reaktif protein (CRP) olduğuna işaret etmektedir. Bunun yanında bazı enfektif ajanların da inflamasyona götüren biyokimyasal ve biyolojik mekanizmalarını teşvik ediyor olabileceği düşünülmektedir. Özellikle *Chlamydia pneumoniae* gibi mikroorganizmalar ateroskleroz oluşumuna neden olabilmektedir [31]. Genel olarak da diyaliz tedavisi üremik inflamasyon süreci için istikrarlı bir yöntem olmasına rağmen, hemodiyaliz kaynaklı sistemik dolaşımsal stresin endotoksemiye sebep olduğu bilinmektedir [93].

KBH hastalarında sitokin seviyesinin, inflamasyon varlığıyla birlikte yükseldiği belirtilmiştir, fakat bu artışın etiyojisi geniş çaplı olarak hala aydınlatılamamıştır [116]. Özellikle devamlı hemodiyaliz hastalarında inflamasyon kaskatında oynadığı rol gereği IL-6'nın mortalite için bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir [62]. Aynı şekilde plazma IL-6 seviyesinin inflamasyon yanıtı artırmasıyla, yaşlı yetişkenlerde, uzun ömürlülük durumunu ve yaşlanmayla ilişkili bozuklukların gelişimini etkilediği gösterilmiştir [143].

Bunun yanında hemodiyaliz tedavisi gören SDBY hastalarında yapılan bir araştırmada, CRP konsantrasyonu ile IL-6 plazma seviyeleri ölçülerek, IL-6'nın CRP'den daha iyi inflamasyon işaretçisi olduğu ortaya konulmuştur [103].

Diyaliz süreci ile ilgili bazı etmenlerin (biyo-uyuşmazlık, steril olmayan diyalizat vb.) üremik dolaşımda IL-6 seviyesinin yükselmesine etki edebileceği iddia edilse de bu durum tam olarak açıklanamamıştır. Bununla birlikte genetik faktörlerin bu mekanizmada rol aldığına dair bulgular ortaya konmuştur [127].

İskelet kası kökenli IL-6 ise, HD tedavisi süresince IL-6 seviyesinin yükselmesinin yanı sıra oksidatif stresi de artırır. Aynı zamanda protein yıkımını ve böylece kanser hastalarına benzer şekilde zayıflamayı tetikler. IL-6 aynı zamanda insulin benzeri büyüme faktörü (IGF)-1'in salınımını baskılar ve bu durum sarkopeniye (iskelet kasının yenilenemez kaybı) yol açabilir [31, 60]. Bunlardan yola çıkarak IL-6'nın KBH hastalarında, protein-enerji kaybı (PEW) ve ateroskleroz oluşumunda anahtar rol oynadığı söylenebilir [32].

Yapılan çalışmalarla birlikte böbrek hastalarında kardiyovasküler sorunlara dayalı mortalitenin CRP'nin artan plazma konsantrasyonları ile doğrudan bir ilişkisi olduğu kanısı güçlenmektedir. Kronik inflamasyon, SDBY hastalarındaki kardiyovasküler sorunlar ve hastalığın akıbetiyle doğrudan ilişkili, CRP gibi akut faz etkenlerinin seviyesinin artmasıyla meydana gelen bir durumdur [126]. CRP'nin karaciğerdeki sentezinin esas olarak IL-6 sistemi tarafından düzenlenmesi IL-6'nın inflamasyondaki rolünü daha iyi anlamamızı sağlar [93, 127]. IL-6 karaciğerde CRP'nin yanı sıra serum amiloid A (SAA),  $\alpha_1$ -asit glikoprotein, CD14 gibi akut faz proteinlerinin sentezini uyarırken, negatif akut faz yanıt proteinlerinin, örneğin albumin ve transferrin, üretimini baskılar [21, 109].

Hemodiyaliz tedavisi gören SDBY hastalarında mortaliteye etki eden önemli diğer iki faktör, düşük serum albumin ve düşük serum kolesterol seviyeleridir. Bir negatif faz proteini olan serum albumin ve kolesterol seviyelerinin düşmesinden kronik inflamasyona sebep olan sitokin aracılı akut faz reaksiyonları sorumlu tutulabilir. Bu nedenle IL-6'nın kronik inflamasyonda aldığı rol ile, hipoalbuminemi ve dislipoproteinemi gibi hastalığın akıbetine etki eden pek çok komplikasyona sebep olduğunu söyleyebiliriz [21, 109].

SDBY hastalarının çoğu yükselmiş IL-6 seviyesine sahipken, diyaliz hastalarında IL-6 seviyelerinin normal hatta düşük olması genetik faktörlerin önemine işaret etmektedir [127]. Bununla birlikte IL-6 seviyesinin SDBY

hastalarında yükselmesiyle ilişkili olduğu düşünölen etmenleri şöyle sıralayabiliriz;

- Genetik etmenler (SNP vb.)
- İlerleyen yaş
- Azalmış renal fonksiyon ve üremik çözünen maddelerin birikimi
- Komorbidite
- Kronik kalp yetmezliği
- Devamlı enfeksiyonlar (*Chlamydia pneumoniae*, sonda enfeksiyonları vb.)
- Oksidatif stres
- İç organlara ait yağ kitlesinin artması
- Diyaliz kaynaklı faktörler [129].

IL-6'nın biyolojik aktivitesinde IL-6 çözülebilir reseptörlerinin (sIL-6R) de görev aldığı göz önünde bulundurulduğunda bu reseptörün SDBY'deki mortalite ve morbiditeye olan katkısı da önemlidir [109]. Sağlıklı bireylerde dolaşımdaki IL-6'nın yaklaşık %30'u serbesttir ve IL-6R membranına bağlanabilir. IL-6/sIL-6R kompleksi gp130 reseptörü membranına yüksek afinite ile bağlanabilir. Çözülebilir gp130, IL-6/sIL-6R ikilisini nötralize edebilir [55, 106]. Bu durum da sgp130 reseptörünün salınımının, IL-6'nın neden olduğu inflamasyonun etkisini yok edebileceği şeklinde yorumlanabilir [90].

Uzun süreli HD tedavisi gören hastalarda plazma IL-6 seviyesinin yüksek olduğu enzimle bağlanmış immünosorbent deneyi (ELISA) ile tespit edilmiştir. Aynı hasta grubu üzerinde yapılan polimorfizm çalışması, IL-6'nın promotor

bölgesinin hastalığın akıbeti ve biyolojik, besinsel farklılıklarıyla kuvvetli bir ilişkide olduğunu göstermiştir [11].

IL-6'nın endotelial aktiviteyi, damar düz kas proliferasyonunu ve lökosit üretimini düzenlemesi, ateroskleroz gelişimi ile inflamatuvar oluşumu arasındaki bağlantıyı kurar [25]. Akut faz reaksiyonunda aldığı rol, arteriyel trombotik hastalıkların riskini yükseltebilir ve koroner kalp hastalığının patogeneze katılım gösterir [14]. Ayrıca IL-6, kemokin ve adhezyon molekülünün salınımı gibi endotelial fonksiyon bozukluklarıyla ilişkilendirilmiştir [66].

IL-6, hücre yüzey reseptörüne (IL-6R) bağlanmayı uyararak osteoklastları indükler ve böylece kemik hücre yıkımını artırıcı etki gösterir. Bu alanda yapılan araştırmalarla IL-6 ile osteoporoz arasında anlamlı bir ilişki olduğu ortaya konmuştur [41, 101].

#### IL-6 ile ilgili yapılan polimorfizm çalışmaları

IL-6'nın en çok üzerinde durulan SNPLeri (-597 G→A, -572 G→C, -174 G→C) promotor bölgesinde konumlanmış olup, heterozigot ve homozigot örneklerin farklı IL-6 seviyesi profili çizdiği ortaya konmuştur [135, 38]. IL-6 promotor polimorfizmi üzerine yapılan çalışmalarda C allelinin plazmadaki düşük IL-6 seviyesiyle ilgili olduğu gösterilmiştir [53].

Böbrek nakil hastalarında IL-6 promotor polimorfizminin (-174 G/C) doku nakli reddi, kronik allograft nefropati ve kardiyovasküler rahatsızlıklarla ilişkisi konusunda farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar ortaya konmuştur. İspanya'da yapılan bir çalışmada CC genotipinin bu rahatsızlıklarla ilişkilendirilemeyeceği belirtilirken [119], Almanya ve Bulgaristan'da yapılan benzer çalışmalarda da destekleyici sonuçlara ulaşılmıştır [94, 97].

Bir çalışmada IL-6 -174G/C varyantının, fibrinojen seviyesine etki etmediği halde sistolik kan basıncında rol oynadığı gösterilmiş olup koroner arter hastalığı ile ilişkilendirilebileceği önerilmiştir. Koroner arter hastalığında üretimi artan IL-6 molekülünün C-reaktif proteini (CRP) ve fibrinojenin yanında önemli olduğu vurgulanmıştır [66].

Yapılan epidemiyolojik ve ailesel çalışmalarla yüksek tansiyonun gelişiminde genetik yatkınlığın önemli olduğu kabul edilmiştir. Yüksek tansiyon hastalarının değişikliğe uğramış pro ve anti-inflamatuar sitokin profiline sahip olmasından yola çıkarak, Rusya'daki Tatar popülasyonunda yapılan bir araştırmada IL-6 gen polimorfizmlerinin yüksek tansiyondaki kardiyovasküler komplikasyonlarda önemli rol oynadığı gösterilmiştir [136]. Bunun sebebi IL-6'nın -174 gen bölgesindeki C alleli diyaliz hastalarında yükselen kan basıncının oluşmasına katkı sağlamasıdır [82].

İran'da yapılan bir polimorfizm çalışmasında IL-6'nın sistemik lupus eritematozus (SLE) patogeneziyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada IL-6 -572 G/C bölgesinin genotip ve allelik frekanslar bakımından kontrol gruplarından farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak -174 G/C bölgesi için anlamlı bir sonuç elde edilmemiştir [59].

Akut pyelonefrit (böbrek iltihabı) hastaları [124] ile kalp krizi (MI) riski olan hastaların üzerinde yapılan polimorfizm çalışmalarında da [16, 81] benzer şekilde IL-6 -174 G/C promotor bölge polimorfizmi hastalık ve klinik bulgularla ilişkili bulunmamıştır. Buna karşın olaraksa, Ridker IL-6'nın inflamasyon ve doku zararındaki rolüne dikkat çekerek yükselen IL-6 seviyesinin sağlıklı erkeklerde MI riskini yükselttiğini belirtmiştir [117].

IL-6'nın kardiyovasküler hastalıklara dayanan bir diğer etkisi de lipid anormallikleriyle olan ilişkisidir. İnsülin direnci sendromuyla lipid anormalliği olan bireylerde yüksek IL-6 seviyesi tespit edilmiş olup, IL-6 -174 G/C

polimorfizminin plazma total, açlık VLDL-trigliserit ve tokluk serbest yağ asit seviyeleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [51].

Yapılan araştırmalarda IL-6'nın kanser hastalığı üzerinde aldığı rol tam olarak kanıtlanamamış olsa da, gelecek yıllarda bu sitokin, kanserin teşhisine ve etiolojisine olan etkisinin açıklanması beklenmektedir. Bu alanda üzerine en çok çalışılan kanser türleri kemik iliği, non-Hodkin lenfoma, karaciğer, kolorektal ve yumurtalık kanserleri olarak dikkat çekmektedir [64]. IL-6 -174 C/C polimorfizmi olan özofagus kanser hastalarında metastaz riskinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [140].

IL-6 -174 G/C promotor polimorfizminin otopsi böbrek dokuları üzerinde yapılan bir araştırmada Pb, Cd ve Cu gibi metal seviyeleri ile anlamlı bir ilişkisi bulunamamıştır [147].

IL-6 -174 G/C promotor bölge polimorfizmi üzerine yapılan ilişkileri özetlersek, Alzheimer, ateroskleroz, KVH, kanser, insülin bağımlı olmayan diyabet mellitus, osteoporoz, sepsis ve sistemik başlangıç gençlik kronik artrit gibi yaygın hastalıklarla ilişkili olabileceği öne sürülmüştür [17, 26].

## **2.7. Moleküler Teknikler**

### **2.7.1. Polimeraz zincir reaksiyonu**

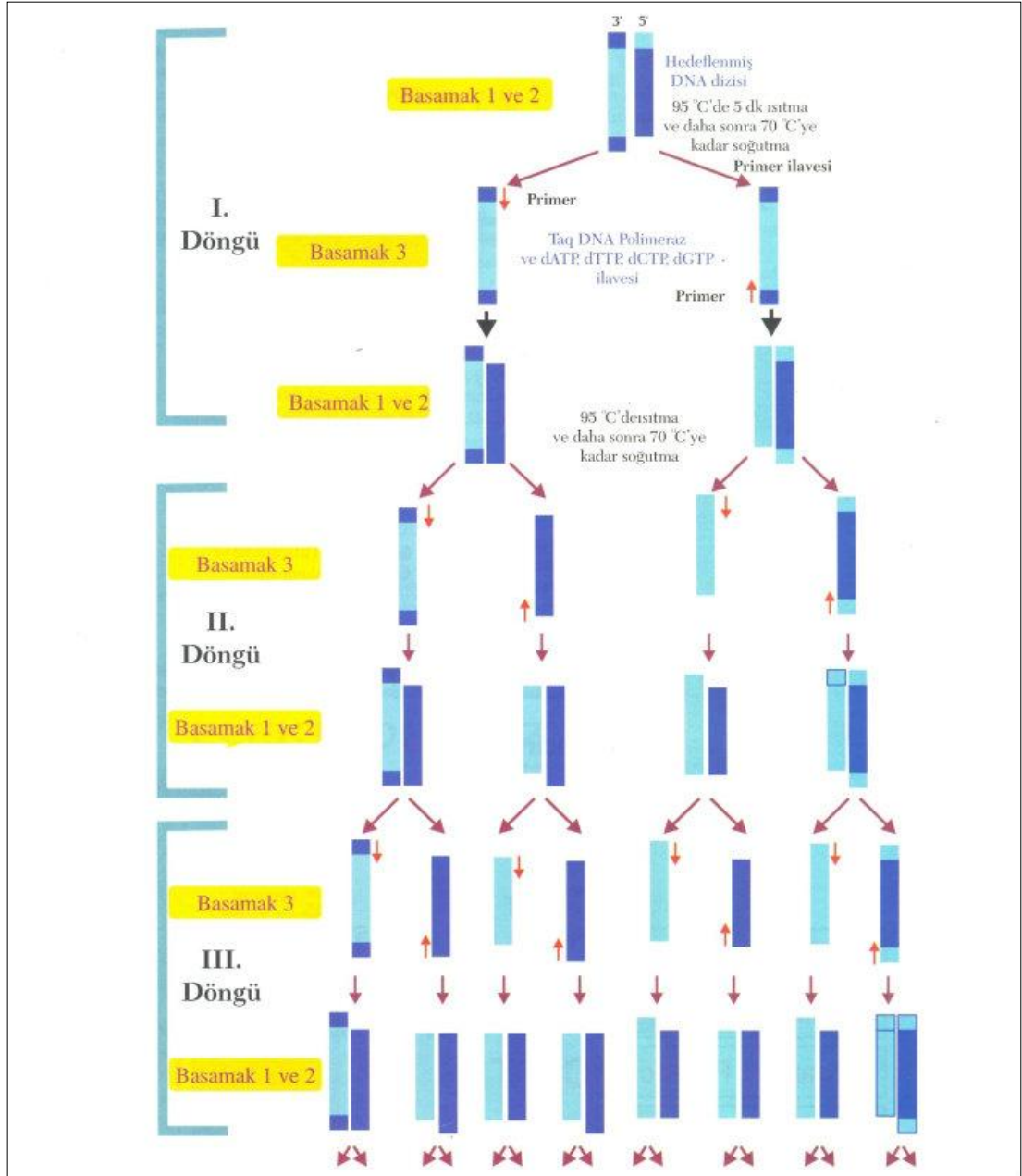
Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), her biri hedef DNA dizisinin bir ucuna tamamlayıcı oligonükleotit primer çifti kullanılarak bir DNA dizisinin çoğaltılmasını sağlar [138]. Bir çift DNA primerinin her biri yaklaşık 18-30 bç uzunluğunda olup, bir bölgeyi  $10^6$ - $10^{12}$  arasında çoğaltmak mümkündür [2]. Çoğaltma genellikle *Thermus aquaticus*'dan elde edilen DNA polimeraz I ile yapılır [25].

Reaksiyon döngüsü üç aşamadan oluşur;



- Denatürasyon: Çift zincirli DNA'nın denatüre olması (95 °C)
- Primer Bağlanması (Annealing): Primerlerin DNA'nın ilgili bölgesine bağlanması (yaklaşık 55 °C)
- Uzama: dNTP'ler ile birlikte zincir uzatılarak DNA bölgesinin kopyalarının sentezlenmesi (yaklaşık 72 °C)

PZR için gerekli olan malzemeler; Kalıp DNA, primerler (revers ve forward), tampon, Taq polimeraz enzimi, Mg<sup>+2</sup> ve dNTP [138] (Şekil 2.10).



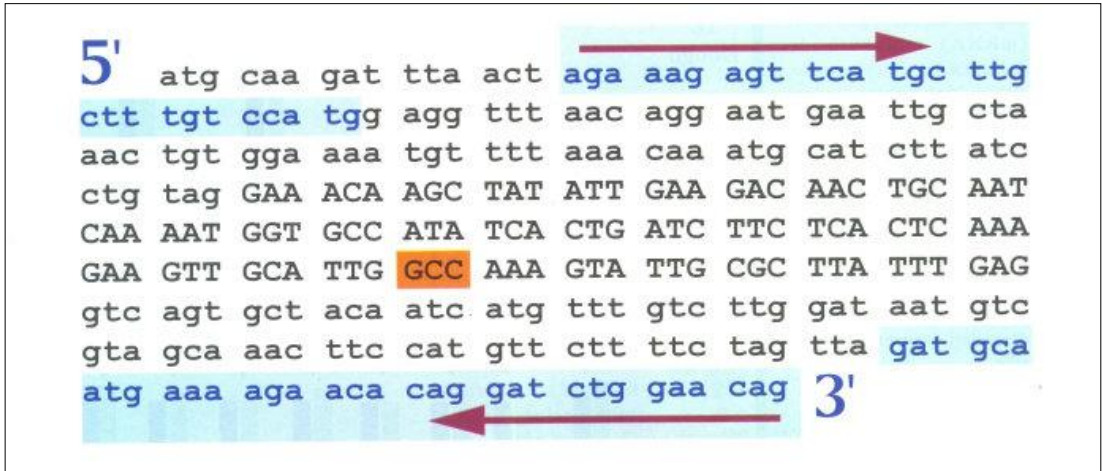
Şekil 2.10. Polimeraz zincir reaksiyonunun döngüsel aşamaları ve basamakları [85].

Primerlerin kalıp DNA'ya bağlanma sıcaklığı, hibritleşmeye izin vermeyecek kadar düşük fakat yanlış eşleşmeye izin vermeyecek kadar da yüksek olmalıdır. Bu sıcaklık  $T_m$  ile gösterilip, aşağıda yer alan formülle hesaplanır [25]:

$$T_m = (4 \times [G + C]) + (2 \times [A + T]) \text{ } ^\circ\text{C}$$

PZR-Değişken sayıda ardışık tekrar polimorfizmi (VNTR), adli tıpta son derece önemli bir tanımlama testidir. VNTR bölge varyantları aslında RFLP analizi ile tanımlanabilir. Ancak PZR'nin keşfi ile duyarlılık ve özgünlük açısından daha güvenilir sonuçlar alındığından, ticari kitlerin de üretimiyle VNTR, adli DNA analizinin bir parçası haline gelmiştir [89].

Primerlerin PZR'de nasıl çalıştığı gösterilmiştir (Şekil 2.11). Küçük harfler intron ve büyük harfler ise ekzonu gösteren DNA dizisinde, kırmızı ile boyalı alan polimorfik bölgeyi göstermektedir. Bu bölgenin de dahil olduğu fragmentin çoğaltılması için 5' (Forward) ve 3' (Revers) primerlerin konumları mavi renkte gösterilmiştir [85].



Şekil 2.11. Primer fonksiyonları [85].

## 2.7.2. PZR sonrası PZR ürünlerini çalışma

### Agaroz jel elektroforezi

Deniz yosunundan üretilen agaroz, elektroforez için kullanılır. Elektriği iletecek olan tampon çözelti varlığında agaroz jele elektriksel alan uygulanır ve DNA parçacıkları şekil ve ağırlıklarına göre belirli bir hızda pozitif elektroda doğru jelin içinde hareket eder. Büyük doğrusal parçacıklar, agaroz liflerin oluşturduğu ağın engeline takıldığından küçük DNA parçacıkları daha hızlı hareket eder ve böylece DNA parçacıklarının moleküler ağırlıklarına göre bant oluşumu gözlenir [138].

PZR sonrasında deneyin çalışıp çalışmadığını kontrol etmek için etidyum bromür ile boyandıktan sonra belirgin bir bant olarak görünebilmesi için genellikle agaroz jel elektroforezi kullanılır [25].

### Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP) analizi

PZR sonrasında çoğaltılan kalıp DNA'nın ilgili bölgesindeki restriksiyon kesim yerlerinin varlığı, PZR ürünü agaroz jelde yürütülmeden önce restriksiyon endonükleazlar ile muamele edilerek belirlenebilir. Bu analiz, genom haritalarının yapımında ve genetik hastalık çalışmalarında sıklıkla kullanılır [25].

### DNA dizi analizi

PZR deneyleri, DNA dizisi hakkında istenen bilgiyi ürünlerin jel elektroforezinde yürütülmesiyle sağlanacak şekilde tasarlanırsa da, kopyalanan DNA fragmentinin dizisinin belirlenmesi gereken durumlar olabilir. Bu işlem için PZR ürünleri klonlanarak standart zincir sonlama dizilimi kullanılarak gerçekleştirilebilir [25].

Zincir sonlanma metodu günümüzde tamamıyla otomasyon halinde yapılabilmektedir. Geleneksel metod, radyoaktif olarak işaretlenmiş olan DNA parçacıklarının otoradyografide okunmasını gerektirirken, son yıllarda floresan işaretleyiciler, radyoaktif maddelerin yerini almıştır [13].

### 3. MATERYAL ve METOD

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Kan örneklerinin toplanması

Bu çalışmaya diyalize giren son dönem böbrek yetmezliği tanısı konmuş 137 hasta ve 106 sağlıklı kontrol olmak üzere toplam 247 birey dahil edilmiştir. Kontrol grubu normal muayene için kliniğe başvurmuş, herhangi bir kronik ya da sistemik hastalığı bulunmayan sağlıklı bireylerden seçilmiştir.

Bütün kan örnekleri Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kurumsal Araştırma Değerlendirme Komisyonu'ndan alınan izin doğrultusunda, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Hemodiyaliz Merkezi'ne yatarak ya da ayakta başvuran bireylerden toplanmıştır.

Etik kurulu tarafından onaylanmış olan genetik materyal üzerinde yapılacak araştırmalar bilgilendirilmiş gönüllü olur formu ile kontrol grubu olarak incelenecek sağlıklı gönüllüler için olur formu aracılığıyla tüm gönüllülere çalışmanın amacı ve içeriği hakkında ayrıntılı bilgi verilmiş olup, izinleri alınmıştır (EK- 1, 2).

DNA izolasyonunda kullanılmak üzere alınan toplam 4,5 ml. kan üzerinde yapılacak tüm çalışmalar, Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

##### 3.1.2. Tampon ve çözeltiler

Kan örneklerinden DNA izolasyonu için kullanılan tampon ve çözeltiler:

- *Eritrosit parçalama tamponu (Red Blood Cell lysis buffer; RBC):* 150 mM NH<sub>4</sub>Cl, 10 mM NaHCO<sub>3</sub> ve 0,5 M EDTA (pH: 8,0).

- *Lökosit parçalama tamponu (STE; Sodyum klorid-Tris-EDTA):* 10 mM Tris-HCl (pH: 7,4), 400 mM NaCl ve 0,1 M EDTA (pH: 8,0).
- *Fenol: kloroform: izoamilalkol (25:24:1) çözeltisi:* 25 ml fenol, 24 ml kloroform ve 1 ml isoamilalkol karıştırılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan çözelti bir gece +4 °C'de bekletildikten sonra kullanılmıştır.
- *Proteinaz K (20 µg/ml):* 0,2 mg proteinaz K, 10 ml TE tamponu.
- *TE çözeltisi:* 10 mM Tris (pH: 8,0), 1 mM EDTA (pH: 8,0).
- *%10'luk Sodyum dodesil sülfat (SDS):* 10 gr SDS, 100 ml distile su içerisinde çözülerek hazırlanmıştır.
- *2M Sodyum Asetat (CH<sub>3</sub>COONa):* 1,64 gr sodyum asetat, 100 ml distile su içerisinde çözülerek hazırlanmıştır.
- *%96'lık etanol:* 96 ml %100'lük etil alkol, 4 ml distile su karıştırılarak hazırlanmıştır.
- *%70'lik etanol:* 70 ml %100'lük etil alkol, 30 ml distile su karıştırılarak hazırlanmıştır.

#### Polimeraz Zincir Reaksiyonu için kullanılan tampon ve çözeltiler

- *Taq polimeraz tamponu 10x:* 100 mM Tris-HCl (pH: 8,3), 500 mM KCl, 1 mg/ml jelatin.
- *MgCl<sub>2</sub>:* 25 mM kullanılmıştır.
- *Nükleotit Karışımı:* 10 mM dNTP (dATP, dGTP, dTTP, dCTP).
- *Taq polimeraz:* 5 u/ µl kullanılmıştır.
- *Primerler:* IL-4 intron 3 ve IL-6 -174 G/C bölgelerinin çoğaltımında kullanılan primerler aşağıda verilmiştir.

*IL-4 intron 3: Forward: 5' -AGGCTGAAAGGGGGAAAGC-3'*

Revers: 5' -CTGTTACCTCAACTGCTCC-3'

*IL-6 -174G/C: Forward: 5' -CAGAAGAACTCAGATGACTG-3'*

Revers: 5' -GTGGGGCTGATTGGAAACC-3'

#### Agaroz jel elektroforezi için kullanılan çözeltiler

- Tris-Asetik Asit-EDTA (TAE) tamponu (x50) (pH: 8,0): 242 g Tris, 57,1 ml glacial asetik asit, 0,5 M 100 ml EDTA (pH 8,0) distile su içerisinde çözülerek hacim 1000 ml'ye tamamlanmıştır.
- Agaroz: %0,8 ve %2'lik (w/v) agaroz TAE tamponunda çözülerek hazırlanmıştır.
- Yükleme tamponu: 40 g. sükröz, 0,025 g. bromofenol mavisi, 0,25 g. ksilen siyanol 100 ml distile su içerisinde çözülerek hazırlanmıştır.
- Etidyum bromür: 10 mg/ml derişimde hazırlanmış ve koyu renkli şişede muhafaza edilmiştir.
- Moleküler ağırlık belirteci (Marker):100 bç'lik (FERMANTAS)

#### Kesim için Gerekli Kimyasallar

- Restriksiyon enzimi: Hsp92II, enzim tamponu ve steril distile su.



### 3.1.3. Laboratuvar gereçleri

Laboratuvar gereçleri çizelgede verilmiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Bu çalışmada laboratuvarında kullanılan gereç ve modelleri.

Cihaz Adı	Modeli
-80 <sup>0</sup> C Derin Dondurucu	SANYO
-30 <sup>0</sup> C Derin Dondurucu	SANYO biomedical
Buzdolabı (+4 <sup>0</sup> C)	SANYO medicool
Buz Makinesi	Hoshizaki
Elektronik Tartı	Scaltec SP051
Hassas Terazı	Sartorius
Otoklav	Tomy SX-700E
Benmari Sıcak Su Banyosu	FALC
Santrifüj	Hettich mikro 22R, Hettich 320 R
PZR	Biometra Thermocycler
Mikrodalga Fırın	Vestel
Ph Metre	Mettler Toledo seven multi
Vortex	Fisons Whirlimixer
Isıtmalı Manyetik Karıştırıcı	Electro mag
Jel Görüntüleme Sistemi	Biometra Biodoc Analyze
Spektrofotometre	Nano drop ND-1000
Saf Su Cihazı	Jencons
Mikropipetler	Gilson Pipettman

## 3.2. Metot

### 3.2.1. DNA izolasyonu

Genomik DNA eldesi için hastalardan ve kontrol grubundan EDTA'lı hemogram tüpüne alınan 4,5 ml'lik periferik kan örnekleri, kanlar hafifçe altüst edildikten sonra 50 ml'lik falkon tüplere aktarılmıştır. Tüplere kan

miktarının 2,5 katı kadar eritrosit parçalama tamponu (RBC lizis) eklenmiştir. Falcon tüpler çalkalandıktan sonra 20 dk. buz üzerinde bekletilmiştir. Örnekler daha sonra 4000 rpm'de +4 °C'de 20 dk. santrifüj edilerek parçalanmış kan hücreleri ile eritrosit parçalama tamponunun birbirinden ayrılması sağlanmıştır. Ardından üst kısımdaki süpernatant dökülerek hacmin 2,5 katı eritrosit parçalama tamponu yeniden eklenerek santrifüj edilmiştir. Bu işleme tüpün dibinde parçalanmış kırmızı kan hücrelerinin üzerinde beyaz lökosit tabakası görülene kadar devam edilmiştir. Süpernatantın dökülmesinden sonra kalan pelletin üzerine 1000 µl RBC lizis ilave edilmiş ve vorteksle homojen hale getirilmiştir. Falcon tüpünden 200 µl örnek 1,5 ml'lik eppendorf tüpüne alınıp işleme devam edilmiş, geriye kalan örnek stoklanmıştır. İşlem yapılacak eppendorf tüpüne 500 µl STE, 30µl SDS (% 10'luk), 20 µl proteinaz K ilave edilmiş ve bir gece 56 °C su banyosunda bekletilmiştir. İkinci gün örneğin üzerine 750 µl fenol: kloroform: izoamil alkol ilave edilmiş ve 10 dk. elde alt üst edilerek çalkalanmıştır. Ardından örnekler 20 dk. buzda bekletilmiştir. 4000 rpm'de +4 °C'de 20 dk. santrifüj edildikten sonra oluşan iki fazdan üst kısım mikropipet ile yeni bir tüpe aktarılmış, üzerine de 1:1 oranında kloroform ilave edilmiştir. Örnek 10 dk. elde alt üst edilerek çalkalandıktan sonra yeniden 20 dk. buzda bekletilmiştir. 4000 rpm'de +4 °C'de 20 dk. santrifüj edildikten sonra süpernatant yine mikropipet yardımı ile dikkatlice başka bir eppendorfa alınmıştır. Hacmin 1\10'u kadar sodyum asetat ve toplam hacmin 2 katı kadar % 95'lik etanol ilave edilip DNA iplikçikleri beyaz yumak şeklinde görünür hale gelinceye dek tüp yavaşça alt üst edilmiştir. Örnek -30 °C'de 1 gece bekletilmiştir. Üçüncü gün örnek 4000 rpm'de +4 °C'de 20 dk santrifüj edilip sıvı kısım dökülmüştür. Tüpe 500 µl %70'lik etanol ilave edilip 20 dk. 4000 rpm'de +4 °C'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası alkol dikkatlice dökülüp kurumaya bırakılmıştır. DNA yumağının görünürlüğü oranına göre, 100–400 µl aralığında TE ilave edilip 37 °C su banyosunda bir gece bekletilip DNA'nın çözülmesi sağlanmıştır. Ertesi gün su banyosundan çıkan DNA'lar saklanmak üzere -30 °C buzdobına kaldırılmıştır.

### 3.2.2. Polimeraz zincir reaksiyonu

#### IL-4 intron-3 gen bölgesinin çoğaltılmasında kullanılan primerler ve PZR koşulları

IL-4 intron 3 geninin amplifikasyonu için örnek başına 5 µl Taq Polimeraz tamponu (10X), 3 µl 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 µl dNTP, 1 µl primer, 1µl kalıp DNA ve 0,2 µl Taq polimeraz enzimi (Promega, USA) eklenmiş ve reaksiyon hacmi steril distile su ile 50 µl' ye tamamlanmıştır. Her DNA örneği için hazırlanan bu karışım PZR cihazına (Biometra) yerleştirilerek çizelgede belirtilen program kullanılmıştır (Çizelge 3.2).

IL-4 intron 3 gen bölgesinin çoğaltılması için kullanılan primerler;

*Forward:* 5' -AGGCTGAAAGGGGGAAAGC-3'

*Revers:* 5' -CTGTTACCTCAACTGCTCC-3'

IL-4 intron 3, 70 bç'lik VNTR polimorfizminin genotiplendirmesi doğrudan PZR sonrasında gerçekleştirilen agaroz jel elektroforezi yöntemi ile ortaya konmuştur. Bu bölgedeki 183 bç.lik allel yaban tip ve 253 bç.lik allel ise mutant tip olarak adlandırılmıştır.

Çizelge 3.2. IL-4 intron 3 PZR koşulları

Başlangıç Denatürasyonu	Tepkime Döngüsü (30 Döngü)			Son Sentez Aşaması
	<u>Denatürasyon Aşaması</u>	<u>Hibridizasyon Aşaması</u>	<u>Sentez (Uzama) Aşaması</u>	
94 °C'de 5 dk	95 °C'de 30 sn	60 °C'de 42 sn	72 °C'de 42 sn	72 °C'de 5 dk

IL-6 -174 G/C gen bölgesinin çoğaltılmasında kullanılan primerler ve PZR koşulları

IL-6-174 G/C geninin amplifikasyonu için örnek başına 10 µl Taq Polimeraz tamponu (5X), 3 µl 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 µl dNTP, 1 µl primer, 1µl kalıp DNA ve 0,2 µl Taq polimeraz enzimi (Promega, USA) eklenmiş ve reaksiyon hacmi steril distile su ile 50 µl' ye tamamlanmıştır. Her DNA örneği için hazırlanan bu karışım PZR cihazına (Biometra) yerleştirilerek aşağıda belirtilen program kullanılmıştır (Çizelge 3.3).

IL-6 -174 G/C gen bölgesinin çoğaltılması için kullanılan primerler;

*Forward:* 5' -CAGAAGAACTCAGATGACTG-3'

*Revers:* 5' -GTGGGGCTGATTGGAAACC-3'

Çizelge 3.3. IL-6-174 G/C PZR koşulları

Başlangıç Denatürasyonu	Tepkime Döngüsü (35 Döngü)			Son Sentez Aşaması
	Denatürasyon Aşaması	Hibridizasyon Aşaması	Sentez (Uzama) Aşaması	
94 °C'de 3 dk	94 °C'de 30 sn	56 °C'de 35 sn	72 °C'de 30 sn	72 °C'de 5 dk

### 3.2.3. Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP) analizi

IL-6 -174 G/C polimorfik gen bölgesindeki C alleli *Hsp92II* endonükleazı için kesim bölgesi içerirken G alleli içermez. (G→C) tek nükleotid değişimi olduğu takdirde *Hsp92II* restriksiyon enziminin tanıma bölgesi oluşmuş olur ve kesim gerçekleşir.

RFLP analizi için 8 µl PZR ürünü 2 µl *Hsp92II* (Promega, USA) kesim birimiyle (0,1 µl BSA, 0,4 µl restriksiyon endonükleaz, 0,5 µl steril distile su, 1 µl enzim tamponu) muamele edilmiş ve bir gece 37 °C'de etüvde beklemeye bırakılmıştır. Ertesi gün kesim örnekleri %2'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek, oluşturdukları bant sayısı ve hesaplanan molekül ağırlıklarına göre genotip analizleri yapılmıştır.

#### **3.2.4. Agaroz jel elektroforezi**

PZR ve restriksiyon enzim kesim ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütülmüştür. Bunun için 2 gr agar hassas terazide tartılıp 100 ml 1x TAE içinde çözülmüş ve mikrodalga fırında kaynatılmıştır. Agaroz homojen bir şekilde eridikten sonra jel kasedine dökülmüş, uygun taraklar takılarak kuyucukların oluşması sağlanmıştır. 30 dk. kadar beklenip jelin polimerizasyonu sağlandıktan sonra tarak jelden ayrılmış ve kaset agaroz jel elektroforez tankına (BIOMETRA) yerleştirilmiştir. 1x TAE tamponu jelin üzerini geçecek kadar tanka eklenmiştir. İlk kuyucuğa 2 µl DNA marker, diğer kuyucuklara ise 10 µl PZR ya da restriksiyon enzim kesim ürünü 2-4 µl yükleme tamponu (bromfenol blue) ile karıştırılarak yüklenmiştir. Örnekler 30-45 dk. 80 V'luk bir voltaj uygulanarak yürütülmüştür. Yürütme işleminin ardından 10 dk. etidyum bromid ile muamele edilen PZR ve kesim ürünleri Biometra BioDoc Analize görüntüleme cihazı ile UV ışık altında görüntülenmiş ve fotoğrafları kaydedilmiştir.

#### **3.2.5. İstatistiksel analizler**

Yapılan bütün moleküler genetik bulgular ile laboratuvar ve klinik sonuçların istatistiksel değerlendirmesi *RK Ward Versiyon 0.5.7 for Linux* ve *R Commander 1.8-1* (GNU General Public License) ile yapılmıştır.

Her iki polimorfizm çalışmasında da genotip dağılımlarının gerçek Mendeliyen populasyonunu yansıtmayı yansıtmadığı, Hardy–Weinberg eşitliği test edilerek beklenen ve gözlenen allel sıklığı hesaplanmıştır.

IL-4 intron 3 polimorfik gen bölgesinin jel görüntüleri sonucunda gözlemlenen genotiplerin hasta ve kontrol grupları arasında anlamlılığını karşılaştırmak için *Fisher Kesin Testi* kullanıldı. Genotipler arasındaki ilişkinin incelenmesinde Odds Oranı (OR) kullanıldı ve %95 güven aralığı (GA) oluşturuldu. Elde edilen allel dağılımlarının beklenen gözlem sayıları hesaplandı ve klinik bulgularla olan ilişkisi hesaplandı.

IL-6 -174 G/C polimorfik gen bölgesine yapılan PZR-RFLP analizi sonucunda elde edilen bulguları karşılaştırmak için ise *Ki-Kare Testi* uygulandı. Çoklu genotip dağılımlarının klinik bulgularla ortalamalarının karşılaştırması için *Kruskal-Wallis Testi* kullanıldı.

Klinik ve laboratuvar bulguların hasta ve kontrol grupları ile genotip dağılımları arasındaki ilişkinin incelenmesinde ise *Mann-Whitney U Testi* kullanıldı.

Bütün karşılaştırmalı analizlerde p değeri <0,05 olma durumu anlamlı olarak referans alındı.

## 4. DENEYSEL BULGULAR

### 4.1. Laboratuvar ve Klinik Bulgular

Bu çalışmada KBY tanısı konmuş 137 hasta ile 106 sağlıklı bireyin tam kan ve serumunda rutin biyokimyasal parametrelerle birlikte, parathormon ve hematolojik bulguları değerlendirildi.

Bu bulgular ile KBY hasta grubu ve sağlıklı kontrol grubu arasındaki karşılaştırma sonuçları verilmiştir (Çizelge 4.1). Bu sonuçlara göre açlık kan şekeri, BUN, kreatinin, ürik asit, albümin, Ca, P, Ca x P, Na, K, total protein, HDL-kolesterol, trigliserit, hemoglobin değerleri arasında anlamlı bir fark olduğu parametrik olmayan *Mann-Whitney U Testi* ile ortaya kondu. Buna karşın total kolesterol, LDL-kolesterol değerleri ile lökosit sayımı arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Çizelge 4.1. Hasta ve kontrol grubu laboratuvar bulgularının *Mann-Whitney U Testi* ile karşılaştırılması

Bulgu	P değeri (Hasta-Kontrol)	Bulgu	P değeri (Hasta-Kontrol)
Açlık kan şekeri (mg/dl)	p <0,05*	Potasyum (mmol/L)	p <0,05*
BUN (mg/dl)	p <0,05*	T. Protein (g/dl)	p <0,05*
Kreatinin (mg/dl)	p <0,05*	Kolesterol (mg/dl)	p >0,05
Ürik asit (mg/dl)	p <0,05*	HDL-Kolesterol (mg/dl)	p <0,05*
Albümin (g/dl)	p <0,05*	LDL-Kolesterol (mg/dl)	p >0,05
Kalsiyum (mg/dl)	p <0,05*	Trigliserit (mg/dl)	p <0,05*

Çizelge 4.1. (Devam) Hasta ve kontrol grubu laboratuvar bulgularının Mann-Whitney U Testi ile karşılaştırılması

Bulgu	P değeri (Hasta-Kontrol)	Bulgu	P değeri (Hasta-Kontrol)
Fosfor (mg/dl)	p <0,05*	Hemoglobin (g/dL)	p <0,05*
Kalsiyum*Fosfor	p <0,05*	Lökosit	p >0,05
Sodyum (mmol/L)	p <0,05*		

\*p <0,05 olan bulgularla hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunmuştur.

Çalışmadaki KBY hasta ve kontrol gruplarının genel özellikleri (yaş, cinsiyet ve hayatta olma durumları) çizelgede gösterilmiştir (Çizelge 4.2). Hasta ve kontrol grubu arasında cinsiyet ve yaş bakımından bir bağımlılık bulunmamaktadır.

Çizelge 4.2. KBY hasta ve kontrol gruplarının genel özellikleri

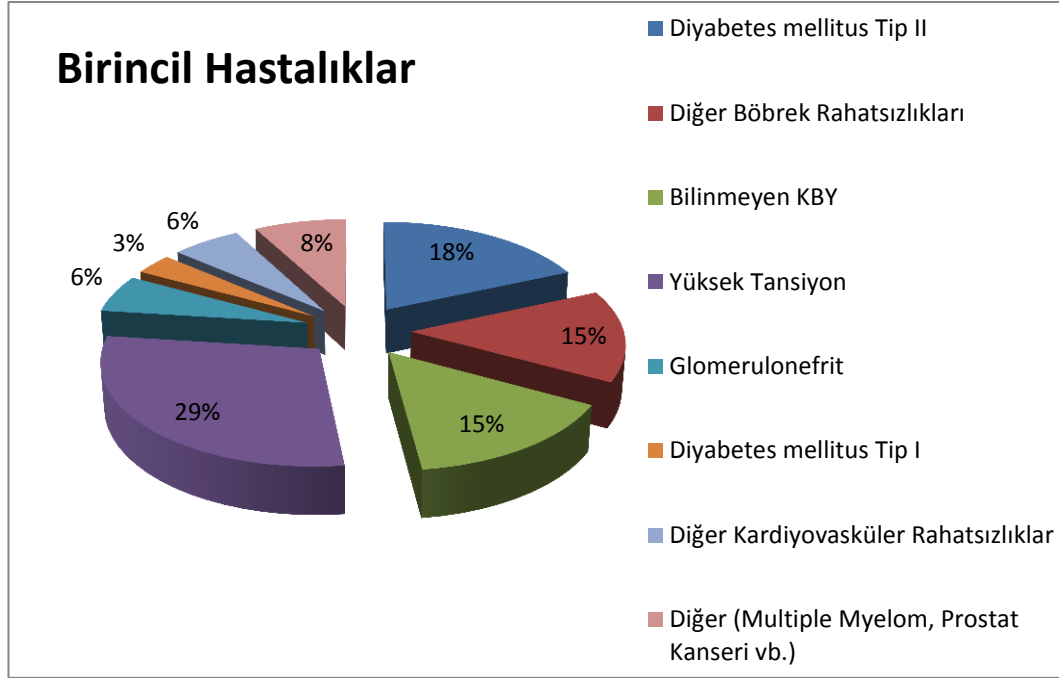
Özellik	Hasta	Kontrol
Yaş ortalaması (yıl, ss)	54,21 (18.39)	29,01 (11.64)
Cinsiyet (K, E)	46 (%33,6) 91 (%66,4)	58 (%55,2) 47 (%44,8)
Hayatta kalma durumu (ölüm/hayatta)	13/128	0/106

Çalışmaya dahil edilen hemodiyaliz tedavisi gören 137 hastanın birincil hastalıklarının dağılımı grafikte gösterilmiştir (Şekil 4.1).

Böbrek yetmezliği sebebiyle Hemodiyaliz servisine başvuran hastaların %29'unun birincil hastalığı olarak yüksek tansiyon not düşülmüştür. Bunu



Diyabet mellitus tip II ve diğer böbrek hastalıkları (nefrolitiazis, nörojenik mesane disfonksiyonu, FSGS, polikistik böbrek vb.) takip etmektedir.



Şekil 4.1. KBY hasta grubunun birincil hastalıkları

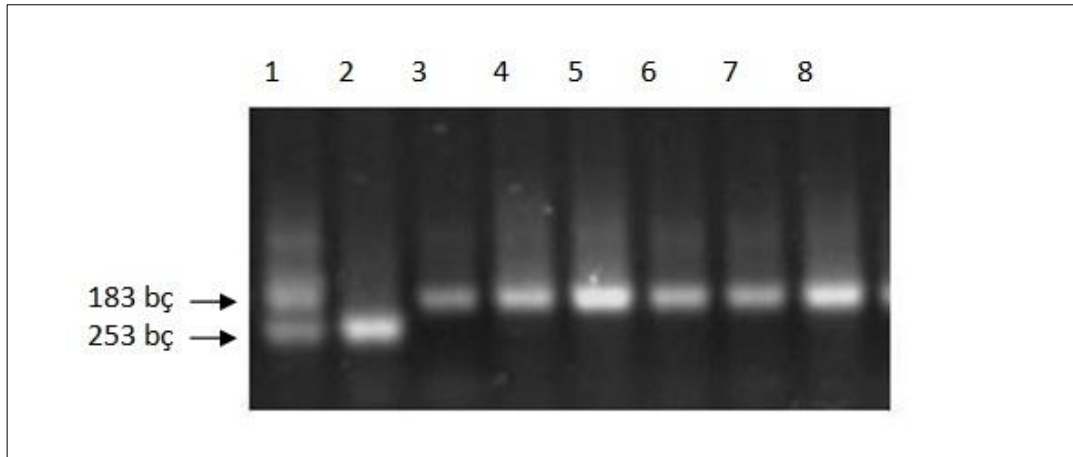
## 4.2. Moleküler Genetik Analiz Bulguları

IL-4 intron 3 ve IL-6 -174 G/C gen bölgeleri PZR-RFLP yöntemiyle analiz edilmiş olup, genetiksel olarak elde edilen bulgular klinik durumlarıyla karşılaştırılmıştır.

### 4.2.1. IL-4 intron 3 VNTR polimorfizmi sonuçları

PZR'ı yapılan 137 KBY hasta ve 106 sağlıklı kontrole ait DNA örnekleri %2'lik agaroz jelde yürütülmüştür (Şekil 4.2). 183 ve 253 bç.lik bantlar arasındaki 70 bç.lik fark ortaya konmuş olup VNTR polimorfizminin genotiplenmesi doğrudan PZR ürünlerinin agaroz jelde yürütülmesiyle yapılmıştır. Şekil 4.2'de görülen PZR ürünlerinin oluşturmuş olduğu bantlar ve genotipleri şöyledir;

- 1 no'lu kuyu: heterozigot genotip (183/253),
- 2 no'lu kuyu: homozigot mutant genotip (253/253), 4 tekrar dizisi bulundurur,
- 3, 4, 5, 6, 7, 8 no'lu kuyular homozigot yaban tip genotip (183/183), 3 tekrar dizisi bulundurur (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. IL-4 intron 3 bölgesi PZR sonuçlarının agaroz jel görüntüsü

#### IL-4 intron 3 VNTR genotipi ve allel dağılımı:

Hasta ve sağlıklı kontrollerin hepsinde elde edilen verilere dayanarak homozigot 253/253 genotipinin toplamda yeterli örnekte karşılaşılmamasından dolayı bu genotip hesaplama katılmamış ve elde edilen sonuçlar *Fisher Kesin Testi'ne* göre değerlendirilmiştir (Çizelge 4.3).

P değeri 0,05 değerinden yüksek olduğu için hasta ve sağlıklı kontrol bireyler arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu teste göre Odds Oranı için %95 güven aralığı (GA) 0,565-2,383 olarak elde edilmiştir.

Çizelge 4.3. İlgili polimorfik bölgede yapılan analiz sonucuna göre gözlenen genotiplerin dağılım oranları

<b>IL-4 intron 3 Genotip</b>	<b>KBY (n=137)</b>	<b>Kontrol (n=106)</b>	<b>P değeri</b>	<b>Alt sınır</b>	<b>OR</b>	<b>Üst Sınır</b>
<b>183/183 (n=180)</b>	106 (%77,4)	74 (%69,8)	0,3625	0,704	1,335	2,527
<b>183/253 (n=58)</b>	30 (%21,9)	28 (%26,4)				
<b>253/253 (n=5)</b>	1 (%0,7)	4 (%3,8)				
<b>183/253 + 183/253 (n=63)</b>	31	32	0,188	0,7968	1,476	2,740

Çalışılan örneklerde ortaya çıkan 183 ve 253 bç.lik allellerin genel dağılımı ve beklenen gözlem sayıları çizelgede gösterilmiştir (Çizelge 4.4). Allellerin kontrol ve hasta genotiplerindeki dağılımına bakıldığında yüzdelerik dağılımların birbirine yakın olduğu ortaya konmuştur.

Çizelge 4.4. IL-4 intron 3 VNTR allel dağılımı

<b>Allel</b>	<b>TOPLAM ALLEL SAYISI</b>			<b>BEKLENEN GÖZLEM SAYISI</b>	
	<b>Hasta</b>	<b>Kontrol</b>	<b>Toplam</b>	<b>Hasta</b>	<b>Kontrol</b>
<b>183 bç.</b>	242 (88,3)	176 (%83)	<b>274</b>	235,66	182,34
<b>253 bç.</b>	32 (%11,7)	36 (%17)	<b>212</b>	38,34	29,66

IL-4 intron-3 VNTR allel dağılımları bakımından yapılan *Fisher'in Kesin Testi* sonuçlarına göre hasta ve sağlıklı kontrol gruplarında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. IL-4 intron 3 VNTR allel dağılımına göre *Fisher Kesin Testi* sonuçları

<b><i>Fischer'ın Kesin Testi</i></b>			
<b>Allel</b>	<b>Odds sınırı</b>	<b>%95 GA</b>	<b>P</b>
<b>183 bç.</b>	1,545	0,895-2,679	0,1134
<b>273 bç.</b>			

IL-4 intron 3 VNTR genotip dağılımının klinik bulgularla ilişkisi:

IL-4 intron 3 VNTR genotip dağılımı ile KBY hasta ve kontrol gruplarının klinik bulguları *Mann-Whitney U Testi* ile istatistiksel olarak karşılaştırıldı (Çizelge 4.6).

Yapılan test sonuçlarına göre;

- IL-4 intron 3 VNTR genotip dağılımıyla fosforun (P) anlamlı bir ilişkisi bulunmuştur. 183/253 heterozigot genotipe sahip olan KBY hasta ve kontrol örneklerinin daha düşük fosfor seviyelerine sahip olduğu gözlenmiştir.
- Ürik asit ile lökosit genotip dağılımıyla sınıra yakın bir şekilde anlamsız olarak nitelendirilirken diğer parametrelerle de anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir.

Çizelge 4.6. KBY hasta ve kontrol gruplarında IL-4 intron 3 VNTR genotip dağılımlarının klinik ve laboratuvar bulgularıyla karşılaştırılması

Klinik Bulgu	183/183 genotipi (ortalama, ss)		183/253 genotipi (ortalama, ss)		183/183-183/253 genotipi
	KBY Hasta	Kontrol	KBY Hasta	Kontrol	P değeri
Açlık kan şekeri (mg/dl)	118,35 (58.65)	86,58 (9.47)	121.17 (56.93)	88,50 (22.04)	p >0,05
BUN (mg/dl)	58,84 (15.20)	11,90 (3.33)	55,88 (19.56)	12,24 (2.92)	p >0,05
Kreatinin (mg/dl)	7,43 (3.46)	0,78 (0.12)	6,68 (2.85)	0,79 (0.1)	p >0,05
Ürik asit (mg/dl)	5,71 (1.53)	4,57 (1.26)	5,26 (1.31)	4,30 (1.09)	p=0,058
Albümin (g/dl)	3,52 (0.55)	4,46 (0.24)	3,47 (0.44)	4.40 (0.31)	p >0,05
Kalsiyum (mg/dl)	8,92 (0.73)	9,57 (0.34)	9,00 (0.65)	9,54 (0.39)	p >0,05
Fosfor (mg/dl)	4,95 (1.58)	3,62 (0.87)	4,38 (1.46)	3.39 (0.63)	p <0,05*
Kalsiyum*Fosfor	44,26 (14.97)	34,69 (8.33)	39,59 (13.30)	32,30 (5.96)	p >0,05
Sodyum (mmol/L)	137,04 (2.70)	138,47 (1.87)	136,63 (3.21)	138,64 (2.78)	p >0,05
Potasyum (mmol/L)	4,85 (0.84)	4,31 (0.31)	4,78 (0.86)	4,19 (0.3)	p >0,05

Çizelge 4.6. (Devam) KBY hasta ve kontrol gruplarında IL-4 intron 3 VNTR genotip dağılımlarının klinik ve laboratuvar bulgularıyla karşılaştırılması

Klinik Bulgu	183/183 genotipi (ortalama, ss)		183/253 genotipi (ortalama, ss)		183/183-183/253 genotipi
	KBY Hasta	Kontrol	KBY Hasta	Kontrol	P değeri
T. Protein (g/dl)	6,60 (0.65)	7,37 (0.37)	6,75 (0.89)	7,29 (0.28)	p >0,05
Kolesterol (mg/dl)	165,40 (44.40)	169 (33.53)	167,52 (46.05)	176 (41.12)	p >0,05
HDL-Kolesterol (mg/dl)	35,49 (10.89)	50,39 (11.49)	36,52 (13.52)	51 (11.95)	p >0,05
LDL-Kolesterol (mg/dl)	93,86 (31.80)	99 (32.87)	91,99 (30.21)	104,73 (32.69)	p >0,05
Trigliserit (mg/dl)	190,37 (117.99)	89,52 (41.11)	207,62 (178.25)	126,48 (190.17)	p >0,05
Hemoglobin (g/dL)	10,59 (1.55)	14,36 (1.78)	10,62 (1.95)	14,26 (1.74)	p >0,05
Lökosit	6,77 (2.29)	6,98 (2.19)	7,54 (2.56)	7,02 (1.49)	P=0,057

Diyalize giren KBY hastalarının klinik ve laboratuvar sonuçları ile IL-4 intron 3 gen polimorfizminin ilişkileri *Mann-Whitney-U Testi* ile karşılaştırılmıştır. (Çizelge 4.7).

Çizelgede de görüldüğü üzere hastaların klinik özellikleri ile laboratuvar bulgularının p değeri 0,05'den küçük olduğu için IL-4 intron 3 genotip dağılımıyla ilişkisi olmadığı tespit edilmiştir.

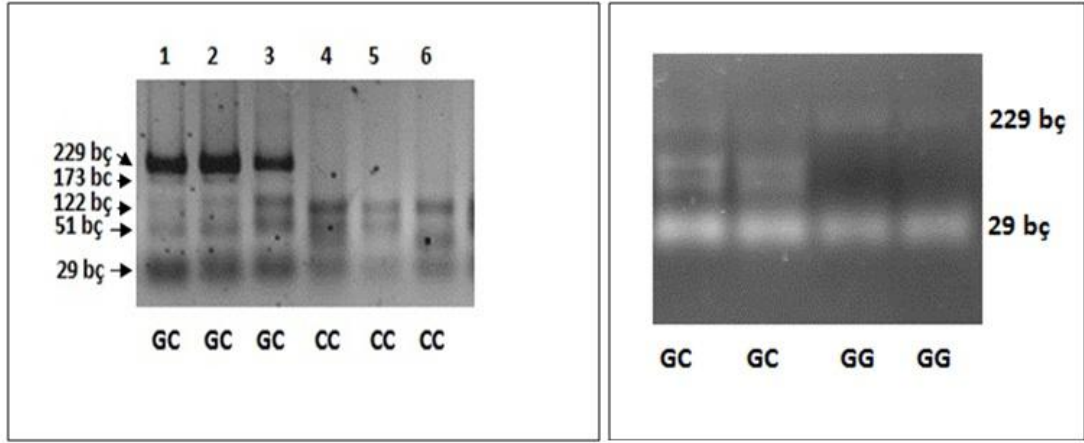
Çizelge 4.7. KBY hasta grubunun klinik tablosunun IL-4 intron 3 VNTR genotipleriyle karşılaştırılması

<b>Klinik Bulgu ve Hasta Bilgileri</b>	<b>183/183 genotipi (ortalama, ss)</b>	<b>183/253 genotipi (ortalama, ss)</b>	<b>P değeri</b>
<b>Diyaliz süresi (yıl)</b>	4,65 (4.27)	4,14 (4.98)	p >0,05
<b>Haftalık diyaliz seans sayısı</b>	2,77 (0.52)	2,82 (0.54)	p >0,05
<b>VKİ</b>	10,80 (12.48)	13,41 (12.61)	p >0,05
<b>Sistolik Kan Basıncı (mmHg)</b>	126,07 (19.98)	128,57 (19.30)	p >0,05
<b>Diastolik Kan Basıncı (mmHg)</b>	71,49 (18.13)	74,52 (14.82)	p >0,05
<b>Nabız (mmHg)</b>	78,33 (13)	79,1 (12.48)	p >0,05
<b>Kt/Vüre</b>	4,65 (1.39)	4,14 (1.45)	p >0,05
<b>Parathormon (pg/ml)</b>	417,14 (394.55)	343,25 (500.53)	p >0,05

#### 4.2.2. IL-6 -174 G/C gen polimorfizmi sonuçları

PZR-RFLP analizi sonucu IL-6 -174 G/C genotipleri ortaya konan 136 hasta ve 103 sağlıklı kontrole ait kesim sonucu %2'lik agaroz jelde yürütülerek gözlemlenen genotipler ve oluşturdukları bantlar şu şekildedir (Şekil 4.3):

- a) GG = 229 + 173 + 29 bç
- b) GC = 229 + 173 + 122 + 51 + 29 bç
- c) CC = 229 + 122 + 51 + 29 bç [38].



Şekil 4.3. IL-6-174 G/C bölgesi PZR-RFLP sonuçlarının agaroz jel görüntüsü

#### IL-6 -174 G/C genotipi ve allel dağılımı:

KBY hasta ve sağlıklı kontrollerden elde edilen genotip dağılımlar *Ki-kare Testi'ne* göre değerlendirilmiştir (Çizelge 4.8).

- KBY hasta ve kontrol grupları arasında genotip dağılımı açısından anlamlı bir fark bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).
- Her iki grupta da en çok rastlanan genotipin heterozigot mutant GC [KBY hasta (%72,9), kontrol (%51,5)] olduğu görülmüştür.
- Mutant allelin bulunduğu heterozigot GC ve homozigot CC genotipleri toplamının yaban tip GG genotipine göre hasta grubunda daha çok görüldüğü tespit edilmiştir ( $p < 0,05$ ).



Çizelge 4.8. KBY hastalarında ve kontrol grubunda IL-6 -174 G/C genotiplerinin dağılımı

<b>IL-6 -174 G/C Genotip</b>	<b>KBY (n=136)</b>	<b>Kontrol (n=103)</b>	<b>P değeri</b>	<b><math>\chi^2</math></b>	<b>Sd</b>
<b>GG</b>	36 (%26,5)	46 (%44,7)	0,00013	17,89	2
<b>GC</b>	72 (%52,9)	53 (%51,5)			
<b>CC</b>	28 (%20,6)	4(%3,9)			
<b>GC + CC</b>	100 (%73,5)	57 (%55,3)	0,0034	8,6	1

IL-6 -174 G/C allel dağılımlarının kontrol ve hasta grubuyla ilişkisini araştırmak amacıyla yapılan *Fisher'in Kesin Testi* sonuçlarına göre;

- Hasta ve kontrol grupları arasında G ve C allellerinin dağılımında anlamlı bir ilişki olduğu görülmüştür (p <0,05).
- Mutant olan ve düşük IL-6 üretiminden sorumlu olduğu öne sürülen C allelinin yüzde olarak kontrol grubunda daha çok bulunduğu tespit edilmiştir.
- Allellerin kontrol ve hasta genotiplerindeki dağılımı ve beklenen gözlem sayıları çizelgede verilmiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. IL-6 -174 bölgesindeki G ve C allellerinin KBY hasta ve kontrol gruplarına göre karşılaştırılması

<b>Allel</b>	<b>TOPLAM ALLEL SAYISI</b>			<b>BEKLENEN GÖZLEM SAYISI</b>	
	<b>KBY Hasta</b>	<b>Kontrol</b>	<b>P değeri</b>	<b>KBY Hasta</b>	<b>Kontrol</b>
<b>G</b>	144 (%75,8)	145 (%61,4)	0,0017	164,45	107,55
<b>C</b>	128 (%24,2)	61 (%38,6)		1,96 (1,26-3,08)	124,55

Çizelge 4.10. IL-6 -174 G/C genotip dağılımının hasta ve kontrol gruplarıyla karşılaştırılması

Klinik Bulgu	GG genotipi (Ortalama, ss)		GC genotipi (Ortalama, ss)		CC genotipi (Ortalama, ss)		P değeri
	KBY Hasta	Kontrol	KBY Hasta	Kontrol	KBY	Kontrol	
<b>Açlık kan şekeri (mg/dl)</b>	115,83 (59.23)	90,07 (17.32)	117,22 (55.87)	84,56 (9.41)	125,25 (63.04)	81,75(5.44 )	p >0,05
<b>BUN (mg/dl)</b>	60,19 (17.88)	13,29 (10.88)	58,87 (15.39)	12,09 (3.14)	53,78 (15.95)	11,18 (2.67)	p <0,05*
<b>Kreatinin (mg/dl)</b>	7,19 (3.93)	0,77 (0.13)	7,28 (2.93)	0,77 (0.11)	7,53 (3.58)	0,76 (0.19)	p <0,05*
<b>Ürik asit (mg/dl)</b>	5,62 (1.61)	4,58 (1.34)	5,62 (1.35)	4,39 (1.15)	5,49 (1.7)	3,66 (1.04)	p >0,05
<b>Albümin (g/dl)</b>	3,46 (0.41)	4,4 (0.3)	3,59 (0.57)	4,44 (0.3)	3,37 (0.53)	4,5 (0.1)	p <0,05*
<b>Kalsiyum (mg/dl)</b>	9,05 (0.7)	9,62 (0.38)	8,97 (0.73)	9,52 (0.32)	8,67 (0.69)	9,39 (0.26)	p <0,05*
<b>Fosfor (mg/dl)</b>	4,88 (1.76)	3,62 (1)	4,78 (1.27)	3,53 (0.64)	4,95 (1.99)	3,59 (0.39)	p >0,05
<b>Kalsiyum*Fosfor</b>	44,28 (16.81)	34,04 (10.79)	42,96 (12.21)	31,5 (10.06)	42,99 (17.71)	33,75 (4.30)	p >0,05

Çizelge 4.10. (Devam) IL-6 -174 G/C genotip dağılımının hasta ve kontrol gruplarıyla karşılaştırılması

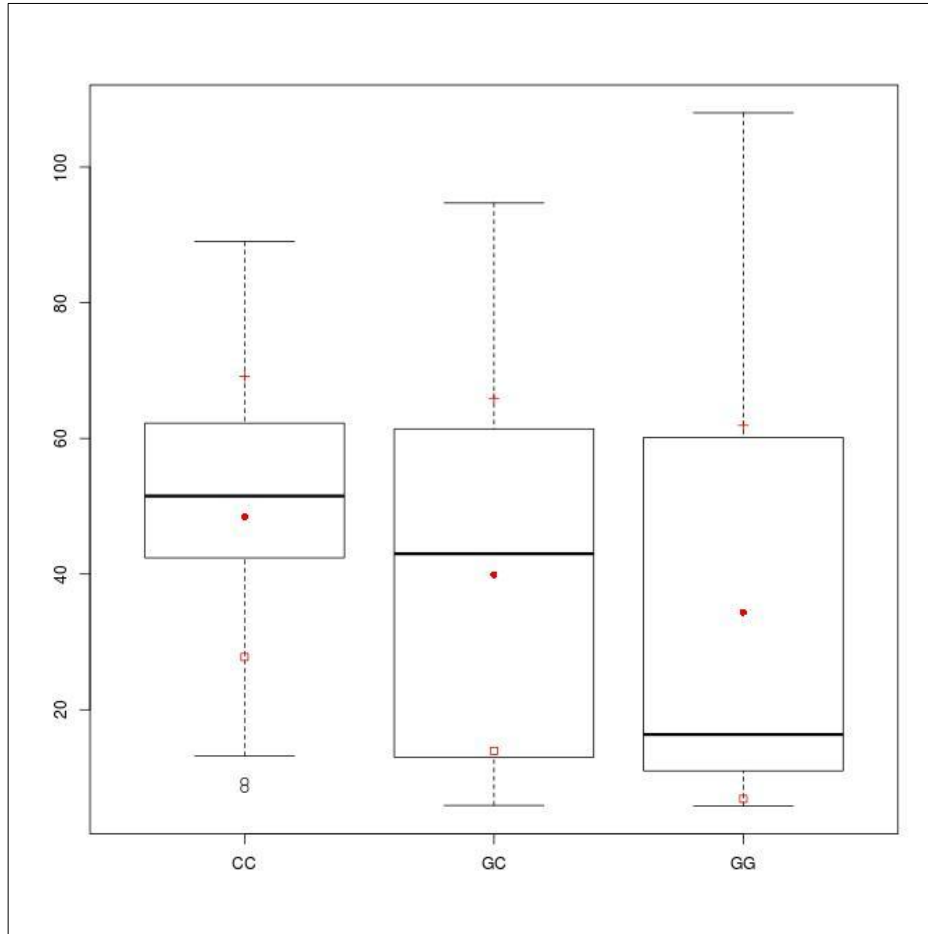
Klinik Bulgu	GG genotipi (Ortalama, ss)		GC genotipi (Ortalama, ss)		CC genotipi (Ortalama, ss)		P değeri
	KBY Hasta	Kontrol	KBY Hasta	Kontrol	KBY	Kontrol	
<b>Sodyum (mmol/L)</b>	136,94 (2.69)	138,81 (2.24)	137,01 (2.81)	138,53 (2.17)	136,79 (3.02)	136,25 (0.5)	p <0,05*
<b>Potasyum (mmol/L)</b>	4,83 (0.95)	4,35 (0.34)	4,91 (0.75)	4,21 (0.27)	4,68 (0.93)	4,05 (0.13)	p >0,05
<b>T. Protein (g/dl)</b>	6,72 (0.77)	7,32 (0.36)	6,62 (0.61)	7,39 (0.29)	6,52 (0.88)	7,23 (0.05)	P=0,059
<b>Kolesterol (mg/dl)</b>	159,78 (40.78)	174,68 (31.12)	171,23 (45.48)	169,49 (38.94)	160,41 (47.22)	147,25 (17.21)	p >0,05
<b>HDL-Kolesterol (mg/dl)</b>	36,06 (11.32)	50,8 (10.96)	37,33 (11.72)	49,76 (11.68)	30,96 (10.13)	63,25 (8.88)	p <0,05*
<b>LDL-Kolesterol (mg/dl)</b>	89,6 (26.61)	103,59 (30.81)	97,70 (30.9)	100,53 (34.2)	88,76 (37.22)	71,90 (14.52)	p >0,05
<b>Trigliserit (mg/dl)</b>	181,72 (114.88)	93,84 (42.04)	196,46 (132.68)	105,76 (143.63)	207,41 (157.6)	60,5 (4.51)	p >0,05

Çizelge 4.10. (Devam) IL-6 -174 G/C genotip dağılımının hasta ve kontrol gruplarıyla karşılaştırılması

Klinik Bulgu	GG genotipi (Ortalama, ss)		GC genotipi (Ortalama, ss)		CC genotipi (Ortalama, ss)		P değeri
	KBY Hasta	Kontrol	KBY Hasta	Kontrol	KBY	Kontrol	
Hemoglobin (g/dL)	10,21 (1.44)	13,91 (1.57)	11,04 (1.63)	14,62 (1.86)	9,96 (1.6)	13,91 (1.38)	p <0,05*
Lökosit	6,92 (2.72)	6,99 (2.13)	6,5 (1.78)	7,11 (1.92)	7,99 (2.84)	6.89 (2.17)	p >0,05

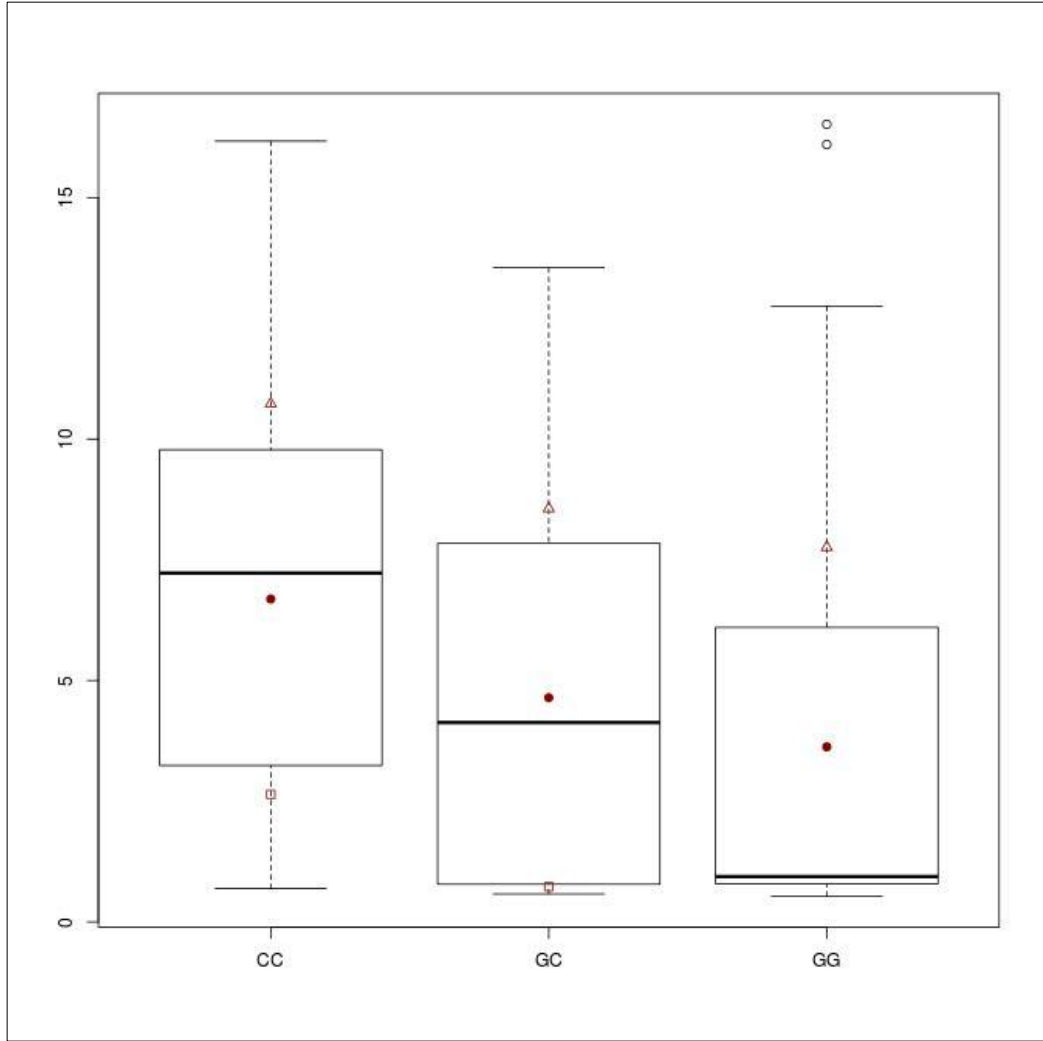
IL-6 -174 G/C genotip dağılımının KBY hasta ve kontrol gruplarındaki klinik ve laboratuvar bulgularıyla olan ilişkisi *Kruskal-Wallis Sıra Sayıları Testi* ile tespit edildi (Çizelge 4.10). Buna göre,

- Her iki grupta da *BUN* parametresinin C allel varlığında daha düşük olduğu görülmüştür (Şekil 4.4).



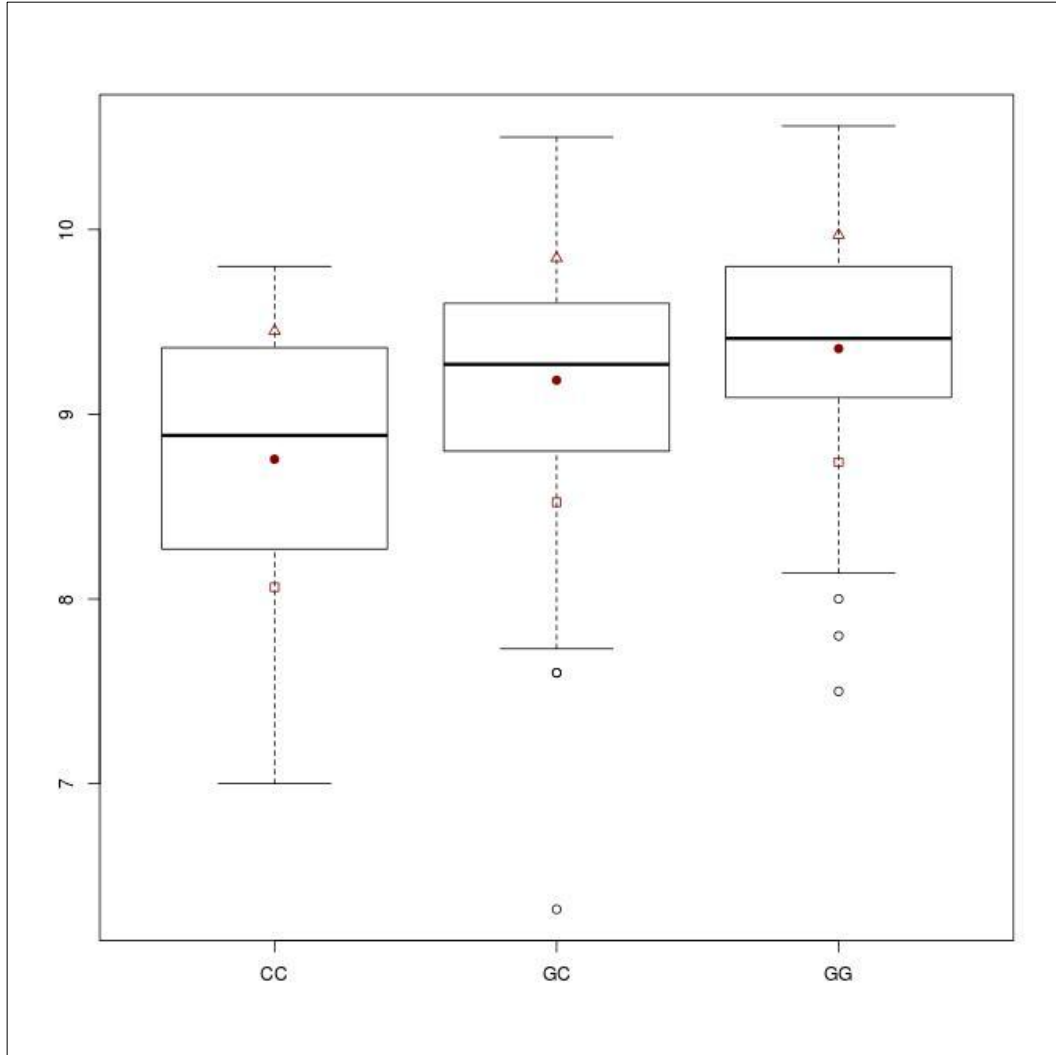
Şekil 4.4. BUN değerinin IL-6 -174 G/C polimorfik genotiplerindeki değerleri. Kırmızı yuvarlak ortalama değerleri göstermektedir.

- KBY hasta grubunda *kreatinin* değerinin C allel varlığında yükseldiği gözlenmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Kreatininin IL-6 -174 G/C polimorfik genotiplerindeki değerleri. Kırmızı yuvarlak ortalamayı göstermektedir.

- *Kalsiyum* değerinin C allel varlığında anlamlı bir şekilde azaldığı görülmüştür (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Kandaki Ca değerinin IL-6 -174 G/C polimorfik genotiplerindeki değerleri. Kırmızı yuvarlak ortalamayı göstermektedir.

- *Albümin, sodyum, HDL kolesterol ve hemoglobin* parametrelerinin genotip dağılımla ilişkilendirilebileceği tespit edilmiştir ( $p < 0,05$ ).
- P değeri 0,05'in üzerinde olan diğer parametrelerin ise IL-6 -174 G/C polimorfizmiyle anlamlı bir ilişkisi bulunmamıştır.

Diyalize giren KBY hastalarının klinik ve laboratuvar sonuçları ile IL-6 -174 G/C polimorfizminin karşılaştırması için *Kruskal-Wallis Testi* yapılmıştır

(Çizelge 4.10). Çizelgede de görüldüğü üzere polimorfik farklılıklar ile hasta klinik tablo arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Çizelge 4.11. KBY hasta grubunun klinik tablosunun IL-6 -174 G/C genotipleriyle karşılaştırılması

<b>Klinik Bulgu ve Hasta Bilgileri</b>	<b>GG genotipi</b>	<b>GC genotipi</b>	<b>CC genotipi</b>	<b>P değeri</b>
<b>Diyaliz süresi (yıl)</b>	3,75 (2.86)	4,89 (4.65)	4,8 (5.5)	p >0,05
<b>Haftalık diyaliz seans sayısı</b>	2,65 (0.69)	2,83 (0.45)	2,86 (0.45)	p >0,05
<b>VKİ</b>	14,42 (11.54)	9,16 (12.96)	12,68 (11.99)	p >0,05
<b>Sistolik Kan Basıncı (mmHg)</b>	128,93 (19.4)	123,92 (21.1)	127,2 (20.92)	p >0,05
<b>Diastolik Kan Basıncı (mmHg)</b>	75,1 (25.86)	68,25 (12.58)	75 (14.14)	p >0,05
<b>Nabız (mmHg)</b>	79,77 (15.44)	76,99 (12.61)	81,84 (13.21)	p >0,05
<b>Kt/V<sub>üre</sub></b>	1,45 (0.22)	1,41 (0.22)	1,35 (0.25)	p >0,05
<b>Parathormon (pg/ml)</b>	496,37 (348.23)	372,51 (289.48)	496,37 (636.02)	p >0,05

Bu çalışmada yer alan IL-4 intron 3 genotipleri ile IL-6 -174 G/C polimorfik bölgelerinin KBY hasta ve kontrol grupları arasındaki ilişki Ki-Kare Testiyle araştırılmış olup, p değerinin 0,05'den yüksek çıkması nedeniyle anlamlı bir ilişki olduğu ortaya konmuştur (Çizelge 4.12).



Çizelge 4.12. KBY hasta ve kontrol gruplarında IL-4 intron 3 ve IL-6 -174 G/C genotiplerin dağılımı

<b>Genotip IL-4/IL-6</b>	<b>KBY hasta</b>	<b>Kontrol</b>
<b>183/183 – GG</b>	36 (%24,8)	27 (%28,7)
<b>183/183 – GC</b>	58 (%40)	33 (%35,1)
<b>183/183 – CC</b>	20 (%13,8)	2 (%2,1)
<b>183/253 + 253/253 –GG</b>	9 (%6,2)	10 (%10,6)
<b>183/253 + 253/253 – GC</b>	14 (%9,7)	20 (%21,3)
<b>183/253 + 253/253 – CC</b>	8 (%5,5)	2 (%2,1)

Çizelge 4.12.'ye göre;

- Hesaplanan  $\chi^2$  değeri 17,51 olup, P değeri 0,0036 olarak hesaplanmıştır.
- Her iki grupta da en çok karşılaşılan genotip IL-4 intron 3 yabani tip (183/183), IL-6 -174 G/C heterozigot mutant tip (GC)'tir.
- IL-4 intron 3 homozigot mutant (253/253) genotip istatistiksel açılarından yetersiz sayıda olduğu için heterozigot mutant (183/253) ile birlikte değerlendirilmiştir.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Son dönem kronik böbrek yetmezliğinde ilerleyici böbrek hasarına sebebiyet veren önemli birincil hastalıklardan biri olan kardiyovasküler hastalıklar, aynı zamanda başlıca mortalite sebebidir. Kardiyovasküler komplikasyonların gelişimine sebebiyet veren kronik inflamasyonun düzenleyici etmenlerinden olan sitokinlerin üretim miktarı ve bu miktarı ifade eden genlerdeki farklılıkların ortaya konması hastalığın ilerleyişi ve klinik tablosunun yorumlanması açısından önem arz etmektedir [33, 36, 127].

Kalıtım gösteren sitokin gen polimorfizmlerinin, KBY ve organ nakli ile ilgili yapılan çalışmalarda hastalıkla ve doku reddiyle ilişkilendirilebileceği ortaya konulmuştur. Ancak bu ilişkinin etnik açıdan değişkenlik gösterebileceği unutulmamalıdır [65]. Hindistan'da yapılan bir çalışmada IL-4 intron 3 VNTR ile IL-6 -174 G/C varyantlarının farklı etnik popülasyonlardaki oranlarıyla karşılaştırma yapılmıştır. Buna göre, aynı coğrafik bölgedeki farklı etnik gruplarla (Güney Hindistan) farklı sonuçlarla karşılaştırılırken, İspanyol ve Polonyalı gibi uzak etnik gruplarla benzer sonuçlarla karşılaşıldığı belirtilmiştir [76].

Bu çalışmada IL-4 intron 3 VNTR genotiplerinin dağılımı bakımından KBY hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. Üç tekrar alleli her iki grupta da en çok karşılaşılan allel olmuştur. Ayrıca genotip dağılımların klinik ve laboratuvar bulgularıyla anlamlı bir ilişkisi olmadığı ortaya konmuştur.

Gelecekte farklı popülasyonlarda KBY hastaları üzerine bu polimorfik gen bölgesi için yapılacak çalışmaların artmasıyla birlikte küresel anlamda bir değerlendirme yapılması mümkün olabilir. Ancak seralojik testlerle ilişkili olarak yapılan çalışmalar göstermektedir ki çalışılan popülasyonlarda en çok üç tekrar alleli ile karşılaştırılırken iki ve dört tekrar alleli nadir bulunmaktadır. Üç tekrar alleli bulunan genotip en yüksek IL-4 üretimi gösteren profil olarak

bilinmektedir [95]. Bu çalışmada en sık dağılım gösteren allel olarak üç tekrar (183 bç.) tespit edilmiştir. Ancak bu analiz IL-4 seviye ölçümleriyle desteklenmediğinden IL-4 üretimine ne yönde katkıda bulunulduğuna dair yorum yapılamamaktadır.

Değişen IL-6 seviyeleri ile SDBY hastalarının akıbeti arasında güçlü bir ilişki olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur [11, 25, 53, 82, 103, 109]. IL-6 üretim hızını kontrol eden -174 konumundaki G/C polimorfizminin pek çok hastalıkla ilişkili olduğu öne sürülmüştür. Çünkü IL-6 geninin promotor bölgesinin polimorfik varyantlarının transkripsiyondaki varyasyonlardan sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle IL-6 -174 bölgesinde G allelinin bulunması inflamatuvar hastalıklardaki kötüye gidiş ve komplikasyonlar ile ilişkilendirilmektedir. Yapılan bir çalışmada SDBY hastalarında ve kontrol gruplarında IL-4 (intron-3, VNTR) ve IL-6 (-174 G/C) genotip sıklığı farklı olduğu gözlenmiştir. Hastaların kontrollere göre daha fazla, IL-4 intron 3 homozigot 273 bç.lik genotip frekansına ve IL-6'nın GG genotipine sahip olduğu tespit edilmiştir. Aynı anlamlı sonuca glomerulonefrit hastalarında da rastlanmıştır [42, 92].

Bu çalışmada IL-6 -174 G/C polimorfizminin genotip dağılımlarını klinik bulgularla ve kontrol grubuyla karşılaştırdığımızda, heterozigot GC genotipinin en sık karşılaşılan genotip olduğu tespit edildi. BUN, kreatinin, Ca, albümin, sodyum, HDL kolesterol ve hemoglobin parametrelerinin üç genotipteki ortalamalarının karşılaştırılmasında, genotipik farklılıkların klinik tabloya etkisinin olabileceği sonucuna varıldı. Ancak, IL-6 gen varyasyonlarının SDBY klinik durumuyla ilişkisi farklı populasyonlar üzerine yapılan çalışmalardan elde edilen farklı sonuçlardan dolayı hala tartışmalıdır. Çoğu çalışma, G allel taşıyıcılarının daha fazla IL-6 ürettiklerini belirtirken [12, 92] bir çalışma da -174 C/C taşıyıcılarının daha yüksek IL-6 seviyesine sahip olduğunu iddia etmiştir [25]. Karahan ve ark. da bu bölgedeki G'den C'ye değişimin NF-1 adında gen ifadesini baskılayan bir bağlayıcı transkripsiyon faktör oluşturduğuna değinmiştir [73]. Literatürdeki bu farklı

sonuçların pek çok sebebi olabilir; irksal farklılıklar, farklı yayılım, rastgele hatalar ve mRNA ile uyumluluğunun kontrol edilmeyip gen ifadesinin yanlış anlaşılması gibi. Bundan dolayı IL-6'daki DNA polimorfizmlerinin etkisini açıklamak için, genetik çalışmaların yanında, protein ürünü ve spesifik fenotipleri de tanımlayan araştırmalara ihtiyaç vardır [128].

Hemodiyaliz hastalarındaki mortalite oranları göz önünde bulundurularak yapılan demografik ve laboratuvar ölçümlerinde 0,0014 P değerinde IL-6 ng/l analizi yapılmış olup hCRP logaritmasıyla arasında güçlü bir korelasyon bulunduğu tespit edilmiştir. Kan değerlerinde ise prealbumin ve MDA seviyelerinin mortaliteye etkili olduğu ortaya konmuştur [62]. Bu nedenle IL-6 gen polimorfizm çalışmalarında diğer inflamasyon belirteçlerinin laboratuvar bulgularının da dikkate alınması genotip-fenotip ilişkisinin anlaşılması açısından önemlidir.

SDBY'de mortalite etkeni olarak bakılan kardiyovasküler sorunlar, anemi, mineral/elektrolit seviyeleri dışında diğer öngörücü hususların klinik çıktıları da ortaya konulmalıdır. Bu araştırmada yer almayan;

- a) Asit-baz belirtileri: Serum bikarbonat seviyeleri
- b) Kardiyovasküler belirtiler: ANP, BNP, homosistein, troponin seviyeleri
- c) İnflamasyon belirtileri: CRP, IL-6 ve TNF seviyelerinin elde edilen genotip dağılımlarıyla ilişkisi araştırılabilir [43].

SDBY hastalarının genetiksel olarak inflamasyon sitokinlerini daha fazla üreteceği (örneğin IL-6), antiinflamatuvar sitokin seviyelerinin ise düşük olacağı önceki çalışmalarda tartışılmışsa da, bu bilginin daha iyi bir tedavi yöntemi için nasıl kullanacağımız hakkında kesin bir yargıya varılamamıştır. Her KBY hastasının bu sitokin genleri için polimorfizm çalışması yapılmasının işlevliliği ile birlikte yakın gelecekte buna açıklık getirilmesi umulmaktadır [12].

Bütün bu amaçlar doğrultusunda sitokin gen-hastalık ilişkisi çalışmalarında ulaşılmaması hedeflenen bilginin kullanım alanı bir yanıyla sınırlıdır. Çünkü insan sistemlerindeki sitokin ağı oldukça karmaşıktır ve genin aktivasyonu ya da baskılanması çok sayıda kaskat tarafından etkinleştirilir [116]. Bu nedenle bu yolların mekanizmaları açıkça ortaya konmadan, eldeki genetik varyasyon verilerden tam olarak faydalanılamaz. Çünkü tek bir genin katılımı küçük olabilir ve bir genin ifadesinin fenotipte görünümü birçok etmenin daha katılımıyla gen-çevre ya da gen-gen etkileşimiyle mümkün olabilir [99].

## KAYNAKLAR

1. Abbas, A.K., Andrew H.L., "Cellular and molecular immunology", **Saunders**, Philadelphia 266-288 (2003).
2. Akgül, S.U., "Canlı vericiden böbrek nakli olan hastalarda nakil sonrası akut ve kronik rejeksiyon gelişimi ile glutasyon s- transferaz (gst) polimorfizmleri ve anti-gstt1 antikoru ilişkisi", Yüksek Lisans Tezi, **İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, İstanbul 3-4 (2010).
3. Akira, S., "IL-6 regulated transcription factors" **Int J Biochem Cell Biol**, 29: 1401–1418 (1997).
4. Arababadi, K. M., "Interleukin-4 gene polymorphisms in type 2 diabetic patients with nephropathy", **Iran J Kidney Dis**, 4 (4): 302–6 (2010).
5. Arık, N., "Nefroloji" **Deniz Matbaacılık**, İstanbul (2001).
6. Arık, N., Ateş, K., Süleymanlar, G., Tonbul, H.Z., Türk, S., "Hekimler için hemodiyaliz kaynak kitabı" **Güneş Tıp Kitabevi**, Ankara 24-49 (2009).
7. Ateş, K., "Diyaliz hastalarında aterosklerozis ve eNOS geninin Glu298Asp polimorfizmi" Uzmanlık tezi, **Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi**, Elazığ 1-7 (2009).
8. Ayköse, G., "Kronik böbrek yetmezliği nedeni ile hemodiyaliz tedavisi gören cinsel disfonksiyonlu erkeklerde gonadal fonksiyonların ve testosteron replasman tedavisinin değerlendirilmesi" Uzmanlık Tezi, **Dr. Lütfi Kırdal Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi**, İstanbul 2-6 (2006).
9. Bacchetta, R., de Waal Malefijt, R., Yssel, H., Abrams, J., de Vries J. E., Spits, H., Roncarolo, M. G., "Host-reactive CD4+ and CD8+ T cell clones isolated from a human chimera produce IL-5, IL-2, IFN-gamma and granulocyte/macrophage-colony-stimulating factor but not IL-4", **J Immunol.**, 144(3): 902–908 (1990).
10. Baigent, C., Landray, M. J., Reith, C., "The effects of lowering LDL cholesterol with simvastatin plus ezetimibe in patients with chronic kidney disease (Study of Heart and Renal Protection): a randomized placebo-controlled trial", **Lancet**, 377 (9784): 2181-2192 (2011).

11. Balakrishnan, V. S., Guo, D., Rao, M., Bertrand L Jaber, Tighiouart, H., Freeman, R. L., Huang, C., King A. J., Pereira B. J. G., the HEMO Study Group, "Cytokine gene polymorphisms in hemodialysis patients: association with comorbidity, functionality, and serum albumin", ***Kidney Int***, 65: 1449–60 (2004).
12. Balakrishnan, V. S., Guo, D., Rao, M., Jaber, B. L., Tighiouart, H., Freeman, R. L., Huang, C., King, A. J., Pereira, B. J. G., the HEMO Study Group "Are inflammatory cytokines the 'evil humors' that increase morbidity and cardiovascular mortality in chronic kidney disease? Cytokine gene polymorphisms in hemodialysis patients: association with comorbidity, functionality, and serum albumin", ***Semin Dial***, 18: 441–443 (2004).
13. Bardakçı, F., Yenidünya, A. F., "Moleküler biyoloji teknikleri I: nükleik asit analiz teknikleri", Moleküler biyoloji, Yıldırım, A., Bardakçı, F., Karataş, M., Tanyolaç, B., ***Nobel Yayın Dağıtım***, Ankara 548-552 (2010).
14. Basso, F., Lowe, G. D., Rumley, A., McMahon, A. D., Humphries, S. E. "Interleukin-6 -174G>C polymorphism and risk of coronary heart disease in West of Scotland coronary prevention study (WOSCOPS)", ***Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.***, 22: 599-604 (2002).
15. Başaran, N., "Tıbbi Genetik Ders Kitabı" 8. Baskı, ***Güneş & Nobel Tıp Kitabevi***, İstanbul, (2003).
16. Bennermo, M., Held, C., Green, F., Strandberg, L. E., Ericsson, C. G., Hansson, L. O., Watkins, H., Hamsten, A., Tornvall, P., "Prognostic value of plasma interleukin-6 concentrations and the -174 G > C and -572 G > C promoter polymorphisms of the interleukin-6 gene in patients with acute myocardial infarction treated with thrombolysis", ***Atherosclerosis***, 174: 157–163 (2004).
17. Bennermo, M., Held, C., Stemme, S., Ericsson, C. G., Silveira, A., Green, F., Tornvall, P., "Genetic predisposition of the interleukin-6 response to inflammation: implications for a variety of major diseases?", ***Clin Chem***, 50 :2136 –2140 (2004).
18. Bidwell, J., Keen, L., Gallagher, G., Kimberly, R., Huizinga, T., McDermott, M. F., Oksenberg J., McNicholl, J., Pociot, F., Hardt, C., D'Alfonso, S., "Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases", ***Genes Immun***, 1: 1–17 (1999).

19. Block, G. A., Hulbert-Shearon, T. E., Levin, N. W., Port, F. K., "Association of serum phosphorus and calcium phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: a national study", ***Am J Kidney Dis***, 31: 607–617 (1998).
20. Block, G.A., Klassen, P. S., Lazarus, J. M., Oftsun, N., Lowrie, E., Chertow, G., "Mineral metabolism, mortality, and morbidity in maintenance hemodialysis", ***J Am Soc Nephrol***, 15: 2208–2218 (2004).
21. Bologa, R. M., Levine, D. M., Parker, T. S., Cheigh, J. S., Serur, D., Stenzel, K. H., Rubin, A.L., "Interleukin-6 predicts hypoalbuminemia, hypocholesterolemia, and mortality in hemodialysis patients", ***Am J Kidney Dis***, 32: 107–114 (1998).
22. Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M., Davis, R.W., "Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms", ***Am. J. Hum. Genet.***,32: 314–331 (1980).
23. Bowcock, A. M., Kidd, J. R., Lathrop, G. M., Daneshvar, L., May, L. T., Ray, A., Sehgal, P. B., Kidd, K. K., Cavalli-Sforza, L. L., "The human 'interferon-beta 2/hepatocyte stimulating factor/interleukin-6' gene: DNA polymorphism studies and localization to chromosome 7p21.", ***Genomics***, 3: 8-16 (1988).
24. Brennan, F.M., Feldman, M., "Cytokine networks" "The cytokine network" Balkwill, F., ***Oxford University Press***, Oxford, 49-64 (2000).
25. Brown, T. A., "Gen klonlama ve DNA analizi giriş" Bardakçı, F., Yenidünya A. F., Yılmaz, N., ***Nobel Yayın Dağıtım*** 6-8, 63 (2009).
26. Brull, D. J., Montgomery, H. E., Sanders, J., Dhamrait, S., Luong, L., Rumley, A., Lowe, G. D., Humphries, S. E., "Interleukin-6 gene -174g>c and -572g>c promoter polymorphisms are strong predictors of plasma interleukin-6 levels after coronary artery bypass surgery", ***Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.***, 21: 1458-1463, (2001).
27. Buraczynska, M., Ksiazek, P., Drop, A., Zaluska, W., Spasiewicz, D., Ksiazek, A., "Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin system in end-stage renal disease", ***Nephrol Dial Transplant***,21: 979– 983 (2006).
28. Burmester, G.R., Pezzutto, A., "Renkli immunoloji atlası", ***Nobel Tıp Kitabevleri***, Tetikkurt, C., İstanbul, (2006).



29. Büyüköztürk, K., "İç Hastalıkları 1. Cilt" **Nobel Tıp Kitabevi**, İstanbul, (1992).
30. Cargill, M., Altshuler, D., Ireland, J., Sklar, P., Ardlie, K., Patil, N., Lane, C. R., Lim, E. P., Kalayanaraman, N., Nemesh, J., Ziaugra, L., Friedland, L., Rolfe, A., Warrington, J., Lipshutz, R., Daley, D. Q., Lander E. S., "Characterization of single-nucleotide polymorphisms in coding regions of human genes", **Nat Genet**, 22: 231–238 (1999).
31. Carrero, J. J., Stenvinkel, P., "Inflammation in end-stage renal disease: What have we learned in 10 years?", **Semin Dial**, 23: 498–509 (2010).
32. Carrero, J. J., Yilmaz, M. I., Lindholm, B., Stenvinkel, P., "Cytokine dysregulation in chronic kidney disease: how can we treat it", **Blood Purif**, 26: 291-299 (2008).
33. Ceppioğlu, S.K., Yurdun, T., Canbakan, M., "Assessment of matrix gla protein, klotho gene polymorphisms, and oxidative stress in chronic kidney disease", **Renal Failure**, 33(9): 866-874 (2011).
34. Chapel, H., Haeney, M., Misbah, S., Snowden, N., "Essentials of clinical immunology", 5th edition, **Blackwell Publishing**, Oxford, (2006).
35. Chalasani, G., Lakkis, F. G., "Cytokines and Transplantation" "The cytokine handbook vol:2" Thomson, A.W., Lotze M.T. **Academic Press**, 1297-1307 (2003).
36. Cohen, S.D., Phillips, T. M., Khetpal, P., Kimmel, P L., "Cytokine patterns and survival in haemodialysis patients", **Nephrol Dial Transplant**, 25: 1239-1243 (2010).
37. Cope, A. P., D. L. Gibbons, D. Aderka., "Differential regulation of tumor necrosis factor receptors (TNF-R) by IL-4: up-regulation of p55 and p75 TNF-R on synovial joint mononuclear cells", **Cytokine**, 3:205 (1993).
38. Cota, L.O.M., Viana, M.B., Moreira, P.R., Gomez, R.S., Cortelli, J.R., Cortelli, S.C., Costa, F.O., "Gingival overgrowth in cyclosporine, tacrolimus, or sirolimus-based immunosuppressive regimens and the single nucleotide IL-6 (-174 G/C) gene polymorphism", **Archives of Oral Biology**, 55(7): 494–501 (2010).

39. Çakmaklı, M.E., "TUS'da Tam İsabete Dahiliye (900 Vaka Sorusu)", ***İstanbul Medikal Yayıncılık***, İstanbul, (2007).
40. Çatar, Ö. Ü., "Böbrek taşı oluşumunu etkileyen gen polimorfizmlerinin araştırılması", Yüksek Lisans Tezi, ***Haliç Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü***, İstanbul 10-15 (2010).
41. Delves, P.J., Martin, S.J., Burton, D.R., Roitt, I.M., "Roitt's temel immunoloji" Ataoğlu, H., ***Atlas Kitapçılık***, Ankara, (2008).
42. DeMichele, A., Martin, A. M., Mick, R., Gor, P., Wray, L., Klein-Cabral M., Athanasiadis, G., Colligan, T., Stadtmayer, E., Weber, B., "Interleukin-6-174G→C polymorphism is associated with improved outcome in high-risk breast cancer", ***Cancer Res***, 63: 8051–8056 (2003).
43. Desai, A. A., Nissenson, A., Chertow, G. M., Farid, M., Singh, I., Van Oijen, M. G., Esrailian, E., Solomon, M. D., Spiegel, B. M., "The relationship between laboratory-based outcome measures and mortality in end-stage renal disease: a systematic review", ***Hemodial Int***, 13: 347–359 (2009).
44. Divers, J., Freedman, B. I., "Susceptibility genes in common complex kidney disease", ***Curr Opin Nephrol Hypertens***, 19:79-84 (2010).
45. Don, B. R., Kim, K., Li, J., Dwyer, T., Alexander, F., Kaysen, G. A., "The effect of etanercept on suppression of the systemic inflammatory response in chronic hemodialysis patients", ***Clin. Nephrol.***, 73: 431–438 (2010).
46. Duff, G., "Genetic variation in cytokines and relevance to inflammation and disease", "The cytokine network" Balkwill, F., ***Oxford University Press***, Oxford, 152-153 (2000).
47. El Nahas, A. M., Bello, A. K., "Chronic kidney disease: the global challenge", ***The Lancet***, 365: 331–340 (2005).
48. Elshamaa, M. F., Sabry, S. M., Bazaraa, H. M., Koura, H. M., Elghoroury, E. A., Kantoush, N.A., Thabet, E.H., Abd-El Haleem, D.A., "Genetic polymorphism of ACE and the angiotensin II type1 receptor genes in children with chronic kidney disease", ***J Inflamm***, 8(1): 20 (2011).

49. Emiroğulları, E.F., “Arteriyo-venöz fistül trombozu gelişen ve gelişmeyen kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda metilentetrahidrofolat redüktaz protrombin, faktör-v ve plazminojen aktivatör inhibitör tip 1 polimorfizmlerinin araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, **Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, Kayseri (2007).
50. Fellström, B. C., Jardine, A. G., Schmieider, R. E., “Rosuvastatin and cardiovascular events in patients undergoing hemodialysis”, **N Engl J Med**, 360:1395–1407 (2009).
51. Fernandez-Real, J. M., Broch, M., Vendrell, J., Richart, C., Ricart, W., “Interleukin-6 gene polymorphism and lipid abnormalities in healthy subjects”, **J Clin Endocrinol Metab**, 85:1334–9 (2000).
52. Fike, D.J., “Cells and tissues of the immune system”, Clinical immunology principles and laboratory diagnosis, Sheenan, C., 2nd edition, **Lippincott**, Philadelphia, (1997).
53. Fishman, D., Faulds G., Jeffery R., Mohamed-Ali, V., Yudkin, J. S., Humphries, S., Woo, P., “The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 gene: their effect on IL-6 transcription, plasma IL-6 levels and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis”, **J. Clin. Invest.**, 102:1369–1376 (1998).
54. Foley, R. N., Parfrey, P. S., Harnett, J. D., Kent, G. M., Hu, L., O’Dea, R., Murray, D. C., Barre, P. E., “Hypocalcemia, morbidity, and mortality in end-stage renal disease”, **Am J Nephrol**, 16: 386–393 (1996).
55. Gaillard, J. P., Mani, J. C., Liautard, J., Klein, B., Brochier, J., “Interleukin 6 receptor signaling. I. gp80 and gp130 receptor interaction in the absence of interleukin 6”, **Eur Cytokine Netw**, 10: 43-48 (1999).
56. Gallagher, G., Eskdale, J., Bidwell, J. L., “Cytokine genetics-polymorphisms, functional variations and disease associations”, The Cytokine handbook 4th edition, Thomson, A. W., Lotze, M. T., **Academic Press**, London, 20 (2003).
57. İnternet: “Gene Cards”, “IL-4 gene”, <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=IL4&search=IL-4> (2012).

58. Internet: "Gene Cards", "IL-6 gene", <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=IL6> (2012).
59. Godarzi, E. M., Sarvestani, E. K., Aflaki, E., Amirghofran, Z., "Interleukin-6 gene polymorphism in Iranian patients with systemic lupus erythematosus", *Clin Rheumatol*, 30: 179–184 (2011).
60. Goodman, M. N., "Interleukin-6 induces skeletal muscle protein breakdown in rats", *Proc Soc Exp Biol Med*, 205: 182–185 (1994).
61. Harris, D., Elder, G., Kairaitis, L., Rangan, G., "Klinik Diyalizin Temel İlkeleri", Kazancı, G., *Nobel Tıp Kitabevleri*, (2008).
62. Hasuike, Y., Nonoguchi, H., Ito, K., Naka, M., Kitamura, R., Nanami, M., Tokuyama, M., Kida A., Otaki Y., Kuragano, T., Nakanishi, T., "Interleukin-6 is a predictor of mortality in stable hemodialysis patients", *Am J Nephrol*, 30:389-98 (2009).
63. Hawkey, L. C., Bosch, J. A., Engeland C. G., Marucha, P. T., Cacioppa, J. T., "Loneliness, Dysporia, Stress, and Immunity: A Role of Cytokines" Cytokines: stress and immunity, Plotnikoff, N. P., Faith, R. E., Murgo, A. J., Good, R. A., *Taylor & Francis Group*,78-79 (2007).
64. Heikkilä, K., Ebrahim, S., Lawlor, D. A., "Systematic review of the association between circulating interleukin-6 (IL-6) and cancer", *Eur. J. Cancer*, 44: 937–945 (2008).
65. Hoffmann, S. C., Stanley, E. M., Cox, E. D., DiMercurio, B. S., Koziol, D. E., Harlan, D. M., Kirk, A. D., Blair, P. J., "Ethnicity greatly influences cytokine gene polymorphism distribution", *Am J Transplant* 2: 560-567 (2002).
66. Humphries, S.E., Luong, L. A., Ogg, M. S., Hawe, E., Miller, G. J., "The interleukin-6-174 G/C promoter polymorphism is associated with risk of coronary heart disease and systolic blood pressure in healthy men", *Eur Heart J*,22: 2243–2252 (2001).
67. Huang, H. D., Lin, F. J., Li, X. J., Wang, L. R., Jiang, G. R., "Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin-aldosterone system in Chinese patients with end-stage renal disease secondary to IgA nephropathy", *Chin Med J*, 123: 3238-3242 (2010).

68. Izuhara, K., Arima, K., Yasunaga, S., "IL-4 and IL-13: their pathological roles in allergic diseases and their potential in developing new therapies", *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*, 1:263–269 (2002).
69. Jaber, B. L., Rao, M., Guo D., Balakrishnan, V. S., Perianayagam, M. C., Freeman, R. B., Pereira, B. J. G., "Cytokine gene promoter polymorphisms and mortality in acute renal failure", *Cytokine*, 25: 212–219 (2004).
70. Jayaraman, R., Van der Voort, J., "Principles of management of chronic kidney disease", *Paediatrics and Child Health*, 20(6): 291-296, (2010).
71. Johnson, D.W., Craven, A. M., Isbel, N. M., "Modification of cardiovascular risk in hemodialysis patients: an evidence-based review", *Hemodial Int*, 11: 1–14 (2007).
72. Kalantar-Zadeh, K., Block, G., Humphreys, M.H., Kopple, J.D., "Reverse epidemiology of cardiovascular risk factors in maintenance dialysis patients", *Kidney Int*, 63: 793-808 (2003).
73. Karahan, Z. C., Deda, G., Sipahi, T., Elhan, A. H., Akar, N., "TNF-alpha -308G/A and IL-6-174 G/C polymorphisms in the Turkish pediatric stroke patients", *Thromb Res.*, 115: 393–398 (2005).
74. Kato, S., Chmielewski, M., Honda, H., Pecoits-Filho, R., Seiichi Matsuo, Yuzawa, Y., Tranaeus, A., Stenvinkel, P., Lindholm, B., "Aspects of immune dysfunction in end-stage renal disease", *Clin J Am Soc Nephrol*, 3(5):1526–1533 (2008).
75. Kelly, K. J., Meehan, S. M., Colvin, R. B., Williams, W. W., Bonventre, J. V., "Protection from toxicant-mediated renal injury in the rat with anti-CD54 antibody", *Kidney Int.*, 56:922-931 (1999).
76. Kesarwani, P., Ahirwar, D., Singh, R., Manchanda, P. K., Mittal, R. D., "Do IL-4 intron 3 VNTR and IL-6 (-174) G/C variants reflect ethnic variation? A comparative study between the global and North Indian populations", *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 9: 76–80 (2008).
77. Kızıl, M., "Hemodiyaliz tedavisi alan kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda obezitenin beslenme durumu ile biyokimyasal parametreler üzerine etkisi", Yüksek Lisans tezi, *Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Ankara 3-5 (2006).

78. Kidney Disease Outcome Quality Initiative (K/DOQI) Advisory Board, "K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification", *Am J Kidney*, 39(2): 1-246 (2002).
79. Kopple, J.D., Zhu, X., Lew, N.L., Lowrie, E.G., "Body weight-for-height relationships predict mortality in maintenance hemodialysis patients", *Kidney Int*, 56: 1136-1148 (1999).
80. Leavey, S.F., Strawderman, R.L., Jones, C.A., Port, F.K., Held, P.J. "Simple nutritional indicators as independent predictors of mortality in hemodialysis patients", *Am J Kidney Dis*, 31: 997-1006 (1998).
81. Lieb, W., Pavlik, R., Erdmann, J., Mayer, B., Holmer, S. R., Fischer, M., Baessler, A., Hengstenberg, C., Loewel, H., Doering, A., Riegger, G. A., Schunkert, H., "No association of interleukin-6 gene polymorphism (- 174 G/C) with myocardial infarction or traditional cardiovascular risk factors", *Int J Cardiol.*, 97: 205–212 (2004).
82. Losito, A., Kalidas, K., Santoni, S., Jeffery, S., "Association of interleukin-6 -174G/C promoter polymorphism with hypertension and left ventricular hypertrophy in dialysis patients", *Kidney Int*, 64: 616–622 (2003).
83. Lovati, E., Richard, A., Frey, B. M., Frey, F. J., Ferrari, P. "Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin-aldosterone system in end-stage renal disease", *Kidney Int*, 60: 46–54, (2001).
84. Luttrupp, K., Stenvinkel, P., Carrero, J. J., Pecoits-Filho, R., Lindholm, B., Nordfors, L., "Understanding the role of genetic polymorphisms in chronic kidney disease", *Pediatr. Nephrol.*, 23: 1941–1949 (2008).
85. Lüleyap, Ü., "Moleküler Genetiğin Esasları", *Nobel Kitabevi*, Adana 168-210, 381-383 (2008).
86. Madore, F., Lowrie, E., Brugnara, C., Lew, N., Lazarus, M., Bridges, K., Owen, W. "Anemia in hemodialysis patients: Variables affecting this outcome predictor", *J Am Soc Nephrol*, 8:1921-1929 (1997).
87. Maes, M., Meltzer, H., Bosmans, E., Bergmans, R., Vandoolaeghe, E., Rajan, R., Desnyder, R., "Increased plasma concentrations of interleukin-6, soluble interleukin-6 receptor, soluble interleukin-2 receptor and transferrin receptor in major depression", *J. Affect. Disord.*, 34: 301–309 (1995).

88. Masutani, K., Miyake, K., Nakashima, H., Hirano, T., Kubo, M., Hirakawa, M., Tsuruya, K., Fukuda, K., Kanai, H., Otsuka, T., Hirakata, H., Iida, M., "Impact of interferon-gamma and interleukin-4 gene polymorphisms on development and progression of IgA nephropathy in Japanese patients", ***Am J KidneyDis.***, 41: 371-9 (2003).
89. McPherson, M. J., Moller, S. G., "PCR", ***BIOSScientific Publishers***, 257-258 (2001).
90. Memoli, B., Grandaliano, G., Soccio, M., Postiglione, L., Guida, B., Bisesti, V., Esposito, P., Procino, A., Marrone, D., Michael, A., Andreucci, M., Schena, F. P., Pertosa, G., "In vivo modulation of soluble 'antagonist' IL-6 receptor synthesis and release in ESRD", ***J Am Soc Nephrol***, 16: 1099–1107, (2005).
91. Mitsnefes, M. M., "Cardiovascular complications of pediatric chronic kidney disease", ***Pediatr Nephrol***, 23:27–39 (2008).
92. Mittal, R.D., Manchanda, P. K., "Association of interleukin (IL)-4 intron-3 and IL-6 -174 G/C gene polymorphism with susceptibility to end-stage renal disease", ***Immunogenetics***, 59 (2): 159–165 (2007).
93. Miyamoto, T., Carrero, J. J., Stenvinkel, P., "Inflammation as a risk factor and target for therapy in chronic kidney disease", ***Curr Opin Nephrol Hypertens.***, 20(6):662-668, (2011).
94. Müller-Steinhardt, M., Hartel, C., Müller, B., Kirchner H., and Fricke L., "The interleukin-6 -174 promoter polymorphism is associated with long-term kidney allograft survival", ***Kidney Int***, 62: 1824–1827 (2002).
95. Nakashima, H., Miyake, K., Inoue, Y., Shimizu, S., Akahoshi, M., Tanaka, Y., Otsuka T., Harada, M., "Association between IL-4 genotype and IL-4 production in the Japanese population", ***Genes Immun***, 3: 107-109 (2002).
96. Nelms, K., Keegan, A. D., Zamorano, J., Ryan, J. J., Paul, W. E., "The IL-4 receptor: signaling mechanisms and biologic functions", ***Annu. Rev. Immunol.***, 17: 701–738 (1999).
97. Nikolova, P.N., Ivanova, M.I., Mihailova, S.M., Myhailova, A.P., Baltadjieva, D.N., Simeonov, P.L., Paskalev, M. K., Naumova, E. J., "Cytokine gene polymorphism in kidney transplantation—impact of TGF-beta 1, TNF-alpha and IL-6 on graft outcome", ***Transpl Immunol***, 18: 344-348 (2008).

98. Nordfors, L., Lindholm, B., Stenvinkel, P., “End-stage renal disease – not an equal opportunity disease: The role of genetic polymorphisms”, ***J. Int. Med.***, 258: 1–12 (2005).
99. Nordfors, L., Luttrupp, K., Carrero J.J., Witasp, A., Stenvinkel, P., Lindholm, B., Schalling, M., “Genetic studies in chronic kidney disease: basic concepts”, ***J Nephrol***, 25 (2): 141-149, (2012).
100. Nusair, M. B., Rajpurohit, N., Alpert M. A., “Chronic Inflammation and Coronary Atherosclerosis in Patients with End-Stage Renal Disease”, ***Cardiorenal Med***, 2:117-124 (2012).
101. Ota, N., Hunt, S. C., Nakajima, T., Suzuki, T., Hosoi, T., Shirai, Y., Emi, M., “Linkage of human tumor necrosis factor- $\alpha$  to human osteoporosis by sib pair analysis”, ***Genes Immunity***, 1:260–264 (2000).
102. Paliard, X., de Waal Malefijt, R., Yssel, H., Blanchard, D., Chretien, I., Abrams, J., de Vries J., Spits, H., “Simultaneous production of IL-2, IL-4, and IFN-gamma by activated human CD4 and CD8 T cell clones”, ***J. Immunol.***, 141: 849–855 (1988).
103. Panichi, U., Maggiore, D., Taccola, D., Migliori, M., Rizza, G. M., Consani, C., Bertini, A., Sposini, S., Perez-Garcia, R., Rindi, P., Palla, R., Tetta, C., “Interleukin-6 is a stronger predictor of total and cardiovascular mortality than C-reactive protein in haemodialysis patients”, ***Nephrol Dial Transplant***, 19: 1154–1160 (2004).
104. Park, S., Stenvinkel, P., Lindholm, B., “Cardiovascular biomarkers in chronic kidney disease”, ***J. Ren Nutr.***, 22(1): 120-127 (2012).
105. Pasternak, J.J., “An introduction to human molecular genetics mechanisms of inherited diseases” 2nd edition, ***John Wiley & Sons Publications***, New Jersey, (2005).
106. Paul, W.E., “Fundamental immunology” 6<sup>th</sup> Edition, ***Lippincott Williams & Wilkins***, New York, (2008).
107. Pecoits-Filho R., Lindholm, B., Stenvinkel, P., “The malnutrition, inflammation, and atherosclerosis (MIA) syndrome—The heart of the matter”, ***Nephrol Dial Transplant***, 17 (11): 28–31 (2002).
108. Pawlik, A., Domanski, L., Rozanski, J., Czerny, B., Juzyszyn, Z., Dutkiewicz, G., Myslak, M., Halasa, M., Słojewski, M., Dąbrowska-



- Zamojcin, E., "The association between cytokine gene polymorphisms and kidney allograft survival", *Ann Transplant*, 13 (2): 54-58 (2008).
109. Pecoits-Filho, R., Barany, B., Lindholm, B., Heimbürger, O., Stenvinkel, P., "Interleukin-6 and its receptor is an independent predictor of mortality in patients starting dialysis treatment", *Nephrol DialTransplant*, 17: 1684–1688 (2002).
  110. Pendey, G.N., Dwivedi, Y., Plotnikoff, N. P., Faith, R. E., Murgo, A. J., Good, R. A., "Role of Cytokines in Depression" "Cytokines: stress and immunity", *Taylor & Francis Group*, 60 (2007).
  111. Pilz, S., Tomaschitz, A., Friedl, A., Amrein, K., Drechsler, C., Ritz, E., Boehm, B. O., Grammer, T. B., März, W., "Vitamin D status and mortality in chronic kidney disease", *Nephrol Dial Transplant*, 26: 3603-3609 (2011).
  112. Prakash, S., Prasad N., Sharma, R.K., Faridi, R.M., Agrawal, S., "Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms in North Indian patients with end stage renal disease", *Cytokine*, 58: 261–266 (2012).
  113. Internet: "RCSB Protein Data Bank" "Human interleukin 6", [http://www.rcsb.org/pdb/images/1alu\\_bio\\_r\\_500.jpg](http://www.rcsb.org/pdb/images/1alu_bio_r_500.jpg) (2012).
  114. Internet: "RCSB Protein Data Bank" "Crystal structure of recombinant human interleukin-4", [http://www.rcsb.org/pdb/images/2int\\_bio\\_r\\_500.jpg](http://www.rcsb.org/pdb/images/2int_bio_r_500.jpg) (2012).
  115. Ranganath, P., Tripathi, G., Sharma, R. K., Sankhwar, S. N., Agrawal, S., "Role of non-HLA genetic variants in end-stage renal disease", *Tissue Antigens*, 74: 147-155 (2009).
  116. Rao, M., Wong, C., Kanetsky, P., Girndt, M., Stenvinkel, P., Reilly, M., Raj, D. S., "Cytokine gene polymorphism and progression of renal and cardiovascular diseases", *Kidney Int*, 72: 549– 556 (2007).
  117. Ridker, P. M., Rifai, N., Stampfer, M.J., Hennekens, C. H., "Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men", *Circulation*, 101: 1767–1772 (2000).
  118. Rungenenti, P., Schieppati, A., Remuzzi, G., "Progression, remission, regression of chronic renal diseases" *Lancet*, 357: 1601-1608 (2001).

119. Sanchez-Velasco, P., Rodrigo, E., Fernandez-Fresnedo, G., Ocejovinyals, J. G., Ruiz, J. C., Arnau, A., Leyva-Cobián, F., Arias M., "Influence of interleukin-6 promoter polymorphism -174 G/C on kidney graft outcome", *Transplant Proc*, 42: 2854-2855 (2010).
120. Satko, S. G., Freedman, B. I., Moossavi, S., "Genetic factors in end-stage renal disease", *Kidney Int.*, 67(94): 46-49 (2005).
121. Satko, S. G., Sedor J.R., Iyengar S. K., "Familial clustering of chronic kidney disease", *Semin Dial*, 20: 229–236 (2007).
122. Schmidt, S., Ritz, E., "Genetics of the renin-angiotensin and renal disease: a progress report", *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 6: 146–151 (1997).
123. Serdengeçti, K., "Kronik böbrek yetmezliği fizyopatolojisi ve klinik bulgular", *Aktüel Tıp Dergisi*, 2(4): 190-197 (1997).
124. Spasojevic-Dimitrijeva, B., Zivkovic, M., Stankovic, A., Stojkovic, L., Kostic, M., "The IL-6 -174G/C polymorphism and renal scarring in children with first acute pyelonephritis", *Pediatr. Nephrol.*, 25: 2099–2106 (2010).
125. Staessen, J. A., Kuznetsova, T., Wang, J. G., Emelianov, D., Vlietinck, R., Fagard, R., "M235T angiotensinogen polymorphism and cardiovascular renal risk", *J Hypertens.*, 17: 9–17 (1999).
126. Stenvinkel, P., Chung, S. H., Heimbürger, O., Lindholm, B., "Malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in peritoneal dialysis patients", *Perit Dial Int*, 21(3): 157–162 (2001).
127. Stenvinkel, P., Barany, P., Heimbürger, O., Pecoits-Filho, R., Lindholm, B., "Mortality, malnutrition, and atherosclerosis in ESRD: What is the role of interleukin-6?", *Kidney Int*, 61: 103–108 (2002).
128. Stenvinkel, P., Pecoits-Filho, R., Lindholm, B., "Gene polymorphism association studies in dialysis: The nutrition-inflammation axis", *Semin Dial*, 18: 322-30 (2005).
129. Stenvinkel, P., Ketteler, M., Johnson, R., Lindholm, B., Pecoits-Filho, R., Riella, M., Cederholm, T., Girndt, M.: "Interleukin-10, IL-6, and TNF-alpha: Central factors in the altered cytokine network of uremia—the good, bad, and the ugly", *Kidney Int*, 67: 1216 -1233 (2005).

130. Strachan, T., Read, A. P., "Human molecular genetics 3" Third edition, **Gardland Publishing**, 402-403 (2004).
131. Suitters, A., Foulkes, R., "Cytokine-neutralizing therapeutic antibodies" Novel cytokine levels, ed. Higgs, G. A., Henderson, B., **Basel**, 126-127 (2000).
132. Süleymanlar, G., Serdengeçti, K., Altıparmak, M. R., Seyahi, N., "Türkiye'de Nefroloji – Diyaliz ve Transplantasyon Registry 2009", **Metris Matbaacılık**, 3-28 (2010).
133. Taga, T., Kishimoto, T., "Interleukin-6" "Human cytokines: handbook for basic and clinical research", ed. Aggarwal, B.B., Gutterman, J.U., **Blackwell Scientific**, Boston, 143-167 (1992).
134. Tanaka, T., Hu-Li, J., Seder, R. A., Fazekas de St Groth, B., Paul. W. E., "Interleukin 4 suppresses interleukin 2 and interferon  $\gamma$  production by naive T cells stimulated by accessory cell-dependent receptor engagement", **Proc. Natl. Acad. Sci**, 90: 5914-5918 (1993).
135. Terry, C. T., Loukaci, V., Green, F. R.. "Cooperative influence of genetic polymorphisms on interleukin 6 transcriptional regulation", **J Biol Chem.**, 24: 18138–44 (2000).
136. Timasheva, Y. R., Nasibullin, T. R., Zakirova, A. N., Mustafina, O. E., "Association of interleukin-6, interleukin-12, and interleukin-10 gene polymorphisms with essential hypertension in Tatars from Russia", **Biochem. Genet.**, 46: 64-74 (2008).
137. Tripathi, G., Borkar, M., Akhter, A., Sankhwar, S, N., Sharma, R. K., Agrawal, S., "Association of proinflammatory cytokines with end stage renal disease", **Cytokine**, 50: 278–83 (2010).
138. Turner, P.C., McLennan, A. G., Bates, A. D., White, M. R. H., "Moleküler biyoloji önemli notlar" ed. Konuk, M., **Nobel Yayın Dağıtım**, Ankara (2004).
139. Uludağ, E., "Kronik renal yetmezlikli hastalarda hemodiyaliz için kullanılan arterovenöz fistüllerde görülen komplikasyonlar ve tedavi yaklaşımları" Uzmanlık tezi, **Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi**, 30-35 İstanbul (2006).
140. Upadhyay, R., Jain, M., Kumar, S., Ghoshal, U. C., Mittal, B., "Association of interleukin-6 (-174G>C) promoter polymorphism


with risk of squamous cell esophageal cancer and tumor location: an exploratory study”, *Clin Immunol*, 128: 199–204 (2008).

141. Vandebroek, K., Goris, A., “Cytokine gene polymorphisms in multifactorial diseases: gateways to novel targets for immunotherapy?”, *Trends Pharmacol. Sci.*, 24: 284–289 (2003).
142. De Vries, J. E., “Interleukin-4” “Human cytokines : handbook for basic and clinical research” Aggarwal, B.B., Gutterman, J.U., **Blackwell Scientific**, Boston, 113-129 (1992).
143. Walston, J. D., Matteini, A. M., Nievergelt, C., Lange, L. A., Fallin, D. M., Barzilai, N., Pawlikowska, L., Kwok, P., Cummings, S. R., Kooperberg, C., LaCroix, A., Tracy, R. P., Atzmon, G., Lange, E. M., Reiner, A. P., “Inflammation and stress-related candidate genes”, *Experimental Gerontology*, 44 (5): 350–355 (2009).
144. Walter, M. R., Cook, W. J., Zhao, B. G., Cameron, R. P., Jr, Ealick, S. E., Walter, R. L., Jr, Reichert, P., Nagabhushan, T. L., Trotta, P. P., Bugg, C. E., “Crystal structure of recombinant human interleukin-4” *J. Biol. Chem.*, 267:20371–76 (1992).
145. Wang, A.Y. M., Chan, D. T. M., Lai, K. N., “Cardiovascular Disease in End-stage Renal Disease”, *Hong Kong J Nephrol*, 8(1): 10-16 (2006).
146. Wiggins, K. J., Johnson, D. W., “The influence of obesity on the development and survival outcomes of chronic kidney disease”, *Adv Chronic Kidney Dis*, 12: 49-55 (2005).
147. Yalçın, S., Kayaaltı, Z., Söylemezoğlu, T., “Role of interleukin-6–174 G/C promoter polymorphism in trace metal levels of autopsy kidney and liver tissues”, *Int J Hyg Environ Health*, 214: 219–224 (2011).
148. Yao, Q., Lindholm, B., Stenvinkel, P. “Inflammation as a cause of malnutrition, atherosclerotic cardiovascular disease, and poor outcome in hemodialysis patients”, *Hemodial Int*, 8:118–129 (2004).
149. Yokota, T., Arai, N., De Vries, J., Spits, H., Banchereau, J., Zlotnik, A., Rennick, D., Howard, M., Takebe, Y., Miyatake, S., Lee, F., Arai, K., “Molecular Biology of Interleukin 4 and Interleukin 5 Genes and Biology of their Products that Stimulate B Cells, T Cells and Hemopoietic Cells”, *Immunol Rev*, 102: 137 (1988).

150. Yudkin, J. S., Kumari, M., Humphries, S. E., Mohamed-Ali, V. "Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link?", *Atherosclerosis*, 148: 209–214, (2000).

**EKLER**

EK- 1. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kurumsal Araştırma Değerlendirme Komisyonu araştırma başvurusu onayı



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

<b>BAŞVURU BİLGİLERİ</b>	PROTOKOL ADI	"Kronik Böbrek yetmezliği Hastalarında İnterlökin-4 Ve İnterlökin-6 Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması"				
<b>DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER</b>	SORUMLU ARAŞTIRICI UNVANI, / ADI	Prof.Dr.Leyla Açık				
	Belge Adı	Tarihi / değişiklik No.su	Dili Türkçe			
<b>KARAR BİLGİLERİ</b>	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ					
	Karar No:084	Tarih: 25 Haziran 2010				
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 uygun olduğuna karar verilmiştir.						
<b>KURUMSAL ARAŞTIRMA DEĞERLENDİRME KOMİSYONU BİLGİLERİ</b>						
<b>ÇALIŞMA ESASI</b>	İYİ KLİNİK UYGULAMALAR KILAVUZU (2010 Versiyonu), BİYOTİK SÖZLEŞMESİ, KLİNİK ARAŞTIRMALAR HAKKINDA YÖNETMELİKTE DEĞİŞİKLİK YAPILMASINA DAİR YÖNETMELİK(11 Mart 2010 tarih ve 27518 sayılı)					
<b>ÜYELER</b>						
Unvanı / Adı / Soyadı Ek Üyeliği	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 x H	xx H	
Prof.Dr.Canan ULUOĞLU BAŞKAN YRD.	Tıbbi Farmakoloji	G.Ü.T.F Tıbbi Farmakoloji A.D.	K	E x H	xx H	
Prof.Dr.Sefer AYCAN ÜYE	Halk Sağlığı	G.Ü.T.F Halk Sağlığı A.D.	E	E x H	E x H	Katılmadı
Prof.Dr.Çağatay ÇİFTER ÜYE	Genel Cerrahi	G.Ü.T.F Genel Cerrahi A.D.	E	E x H	E x H	Katılmadı
Prof.Dr.Aysel ARICIOĞLU ÜYE	Tıbbi Biyokimya	G.Ü.T.F Tıbbi Biyokimya A.D.	K	E x H	xx H	
Prof.Dr.Mustafa KAVUTÇU ÜYE	Tıbbi Biyokimya	G.Ü.T.F Tıbbi Biyokimya A.D.	E	E x H	E x H	Katılmadı
Prof.Dr.Öznur L. BOYUNAGA ÜYE	Radyoloji	G.Ü.T.F Radyoloji A.D.	K	E x H	xx H	
Prof.Dr.Gonca AKBULUT ÜYE	Fizyoloji	G.Ü.T.F Fizyoloji A.D.	K	E x H	xx H	
Prof.Dr.Gaîip GÜZ ÜYE	İç Hastalıkları - Nefroloji	G.Ü.T.F İç Hast. A.D.-Nefroloji B.D.	E	E x H	xx H	
Doç.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU ÜYE	Tıp Tarihi ve Etik	G.Ü.T.F Tıp Tarihi ve Etik A.D.	K	E x H	xx H	
Doç.Dr.Ayhan PÖYRAZ ÜYE	Tıbbi Patoloji	G.Ü.T.F Tıbbi Patoloji A.D.	K	E x H	xx H	
Doç.Dr.Birol DEMİREL ÜYE	Adli Tıp	G.Ü.T.F Adli Tıp A.D.	E	E x H	xx H	
Hukuk Müşaviri Adem GELİR ÜYE	Hukuk Müşaviri	G.U.Rektörlük Hukuk Müşavirliği	E	E x H	xx H	

\* Araştırma İle İlişki  
\*\* Toplantıda Bulunma

Şekil 1.1. Tez araştırması için gerekli izinlerin alındığını gösteren onay formu

EK- 2. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kurumsal Araştırma Değerlendirme Komisyonu tarafından onaylanmış bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

## GENETİK MATERYAL ÜZERİNDE YAPILACAK ARAŞTIRMALAR

### BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Araştırma Projesinin Adı: Kronik Böbrek Yetmezliği hastalarında İnterlökin-4 ve İnterlökin-6 Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması

#### Sorumlu Araştıracının Adı:

Prof. Dr. Leyla AÇIK

#### Yardımcı Araştırmacılar:

Doç. Dr. Kadriye ALTOK REİS

Nagehan RAMAZANOĞLU

Uzm. Dr. Serpil Müge DEĞER

**Destekleyici (varsa):** Araştırma bütçesi tarafımızca karşılanacaktır. Laboratuvarda araştırma için gereken cihazlar, kimyasal maddeler, diğer malzemeler ve enzimler mevcuttur.

“Kronik Böbrek Yetmezliği hastalarında İnterlökin-4 ve İnterlökin-6 Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması” isimli bir çalışmada yer almak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışma, araştırma amacı ile yapılmaktadır. Çalışmaya katılma konusunda karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapıldığını, sizinle ilgili bilgilerin nasıl kullanılacağını, çalışmanın neler içerdiğini, olası yararlarını, risklerini ve rahatsızlıklarını bilmeniz önemlidir.



EK- 2. (Devam) Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kurumsal Araştırma Değerlendirme Komisyonu tarafından onaylanmış bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırın ve bu bilgileri ailenizle ve/veya doktorunuzla tartışın. Çalışma hakkında tam olarak bilgi sahibi olduktan sonra ve sorularınız cevaplandıktan sonra eğer katılmak isterseniz sizden bu formu imzalamanız istenecektir.

**1. Genetik çalışmanın amacı ve dayanağı nelerdir; benden başka kaç kişi bu çalışmaya katılacak?**

**a. Neden özellikle bu kişi / hasta seçilmiştir?**

Bu çalışmaya davet edilmenizin nedeni sizde kronik böbrek yetmezliği tanısı konmasıdır. Katılımınız ile bu hastalığın nedenlerini ortaya çıkarabilecek bir araştırma gerçekleştirilecektir.

**b. Çalışmanın önemi ve gerekliliği nelerdir?**

Genler, DNA olarak isimlendirilen genetik materyalden oluşur. DNA hücrenin bir bölümüdür ve kalıtsal özelliklerin (göz rengi gibi) oluşmasından sorumludur. “Kronik Böbrek Yetmezliği” hastalığı ile ilişkilendirilen çeşitli genler bulunmuştur. Bu araştırma ile sizin DNA'nızı çalışmak ve genlerinizde herhangi bir anormallik olup olmadığını ya da bu soruna neden olabilecek yeni genler olup olmadığını bulmak istiyoruz.

**c. Çalışmaya toplam kaç kişinin katılması planlanmaktadır?**

Çalışmaya toplam 300 kişinin katılması planlanmaktadır.

**2. Bu genetik çalışmaya katılmamalı mıyım?**

EK- 2. (Devam) Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kurumsal Araştırma Değerlendirme Komisyonu tarafından onaylanmış bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

Bu çalışmada yer alıp almamak tamamen size bağlıdır. Eğer katılmaya karar verirsiniz bu yazılı bilgilendirilmiş olur formu imzalanmak için size verilecektir. Şu anda bu formu imzalarsanız bile istediğiniz herhangi bir zamanda bir neden göstermeksizin çalışmayı bırakmakta özgürsünüz. Böyle

bir karar vermeniz durumunda tıbbi bakımınız bu durumdan etkilenmeyecektir.

### **3. Genetik araştırma nasıl yapılacak?**

#### **a. Hangi örnek (ler) alınacak ve nasıl alınacak ?**

Araştırmaya katılmayı kabul ederseniz, 5 ml (yaklaşık 1 tatlı kaşığı kadar) kadar bir miktarda kolunuzdan kan alınacaktır. Genellikle bir tek örnekleme yeterlidir ancak bu aşamada başarısız olduğunda bir kez daha kan vermeniz istenebilir.

#### **b. Örnekte neler araştırılacak?**

Örneklerden DNA izole edilerek kronik böbrek yetmezliğine sebep olabilecek gen mutasyonları araştırılacaktır. Bu çalışma için kan örnekleri kendi laboratuvarımızda genetik analiz yapılmak üzere birtakım çalışmalardan geçirilecektir.

#### **c. Örnekler nerede çalışılacak?**

Toplanan kanlar ile Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji laboratuvarında çalışılacaktır.

EK- 2. (Devam) Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kurumsal Araştırma Değerlendirme Komisyonu tarafından onaylanmış bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

**d. Genetik örneğin gelecekte nasıl imha edilmesi planlanıyor?**

Elde edilen DNA, DNaz enzimi ile parçalanarak, atılacaktır.

**4.Tarafımdan alınan örnekler gelecekte de kullanılabilir mi?**

*(Bu bölümde katılımcıdan “Tabakalandırılmış olur” olarak isimlendirilen bir onay alınmalıdır. Aşağıda yazılı olan bölüm aynen korunarak katılımcının aşağıdaki 4 seçenekten birini işaretlemesi istenmelidir).*

Tarafınızdan alınan örneğin saklanması ve ileride yapılacak diğer çalışmalarda kullanımı ancak sizin izninize tabidir. Bu örnekler uzun yıllar isminiz (kimlik bilgileriniz) korunmak ya da yok edilmek kaydı ile saklanabilir. Lütfen aşağıdaki seçeneklerden size uygun olan bir tanesini işaretleyiniz.

1- Tarafımdan alınan kodlanmış\* örneğin yalnızca önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum; ileride yapılması olası diğer çalışmalar için onay vermiyorum.

2- Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin yalnızca önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum; ileri çalışmalar için tekrar bilgilendirilmek ve yeni onay vermek istiyorum.

3- Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin, araştırma konusuyla bağlantılı diğer çalışmalarda kullanımını onaylıyorum, ancak farklı çalışmalar için tekrar bilgilendirilmek ve yeni onay vermek istiyorum.

EK- 2. (Devam) Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kurumsal Araştırma Değerlendirme Komisyonu tarafından onaylanmış bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

4- Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum ve gelecekte de her türlü genetik çalışmada anonim (kimliğim ile bağlantısız) olarak kullanılmasını onaylıyorum.

\*Kodlanmış örnek: Sizden alınan örneğe bir kod numarası verilir. Kod numarasını yalnızca araştırmacı bilir ve sizin kimlik bilgilerinize yalnızca araştırmacı ulaşabilir. Böylece kimlik bilgileriniz gizli tutulmuş olur.

## 5. Çalışmanın riskleri nelerdir?

**a. Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler:** Planlanmış olan tektiklerin yan etkisi bulunmamaktadır. Sizin rutin kontrolünüz sırasında çalışma için fazladan 1 tüp kan alınacağı için kolunuza yeniden iğne batırılmayacaktır. Kan alınma sırasında bir miktar acı olacaktır sonrasında az miktarda morarma olabilir.

**b. Yapılacak genetik teste bağlı oluşabilecek riskler:** Yapılan testler sizin veya ailenizin bir ferdinin ileriki bir zamanda bu genetik hastalıktan etkilenebileceğini ortaya çıkarabilir. Bu bilginin kötüye kullanılması sizi ekonomik ve sosyal yönden etkileyebileceği gibi, böyle bir hastalığa sahip olduğunuzu öğrenmeniz sizi psikolojik yönden de olumsuz etkileyebilir.

## 6. Çalışmanın yararları nelerdir?

Böyle bir çalışma hastalığa neden olan mekanizmaların ve hastalığa bağlı ek klinik tablolarla ilgili risklerin daha iyi anlaşılacak gelecekte bu hastalığın tedavisinde daha etkin ilaçların geliştirilmesini sağlayabilir. Şu anda bu çalışmanın hemen size bir fayda olarak dönüp dönmeyeceğini bilmiyoruz.

EK- 2. (Devam) Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kurumsal Araştırma Değerlendirme Komisyonu tarafından onaylanmış bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

Ancak ilgili hastalığın temelinde yatan nedenlerin öğrenilmesi tedavide yeni yaklaşımlara ve ileride ilgili hastalıktan etkilenmiş bireylere fayda sağlayacaktır.

### 7. Kişisel bilgilerim nasıl kullanılacak?

Çalışma doktorunuz, araştırmada yer alan diğer araştırmacılar ve destekleyici (varsa, *firma adını belirtiniz*) kişisel bilgilerinizi, araştırmayı ve istatistiksel analizleri yürütmek için kullanacaktır ancak kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır. Size ait bulgular üçüncü kişilere, onayınız dışında hiçbir şekilde açıklanmayacaktır. Çalışmanın sonunda, size ait tüm sonuçlar hakkında bilgi istemeye hakkınız olduğu gibi böyle bir bilgiyi öğrenmeyi reddetme hakkınız da vardır. Lütfen aşağıdaki kutucuklardan size uygun olanı işaretleyiniz:

Bu çalışmada elde edilecek kendimle ilgili bilgileri öğrenmek istiyorum

Bu çalışmada elde edilecek kendimle ilgili bilgileri öğrenmek istemiyorum.

Kendinizle ilgili genetik bilgiyi öğrenmeyi seçmeniz durumunda size (varsa) sağaltım ile ilgili bilgiler ve genetik danışmanlık hizmeti verilecektir.

Çalışma sonuçları çalışma bitiminde tıbbi literatürde yayınlanabilecektir ancak kimliğiniz açıklanmayacaktır.

(Çalışma için eğer gerekiyorsa aşağıdaki standart durumlar açıklanmalıdır)

- **Örnek:** Kanınız genetik faktörler açısından test edilecek ve elde edilen bilgi sizin hakkınızda bize genetik bilgi verecektir. Genetik testler, bu araştırma ile ilgisi olmayan size ait çok özel başka bilgiler de verebilir.

EK- 2. (Devam) Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kurumsal Araştırma Değerlendirme Komisyonu tarafından onaylanmış bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

Böyle bir durumda da gizlilik ilkesine bağlı kalınacak ve bilgiler üçüncü şahıslara sizin onayınız olmaksızın açıklanmayacaktır.)

### **8. Bu çalışmaya katılmamın maliyeti nedir?**

Çalışmaya katılmakla parasal yük altına girmeyeceksiniz ve size de herhangi bir ödeme yapılmayacaktır.

### **9. Çalışmanın ticari bir yönü var mıdır?**

Gönüllülerden elde edilen bilgilerden, tıbbi testler ya da tedaviler geliştirilebilmesi gibi ticari bir fayda sağlanabilir. Böyle bir durum olursa, gönüllüler herhangi bir şekilde ticari gelir temin etmeyeceklerdir.

### **10. Göreceğim olası bir zarar durumunda ne yapılacak?**

Araştırmadan dolayı katılımcının göreceği olası bir zararda bunun sorumluluğunun ve giderilmesi için gerekli her türlü tıbbi müdahalenin yapılacağını; bu konudaki tüm harcamaların üstlenileceğini belirtiriz.

### **11. Daha fazla bilgi, yardım ve iletişim için kime başvurabilirim?**

Araştırma ile ilgili bir sorunuz olduğunda ya da çalışma ile ilgili ek bilgiye gereksinim duyduğunuzda aşağıdaki kişi ile lütfen iletişime geçiniz.

ADI : Prof. Dr. Leyla AÇIK

GÖREVİ : ÖĞRETİM ÜYESİ

EK- 2. (Devam) Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kurumsal Araştırma Değerlendirme Komisyonu tarafından onaylanmış bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

TELEFON : 0 312 2021185

*(Katılımcının/Hastanın Beyanı)*

GÜTF Nefroloji Bilim dalında, Prof. Dr. Leyla AÇIK tarafından genetik bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı ve ilgili metni okudum. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” olarak davet edildim.

Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum. Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir neden göstermeden araştırmadan çekilebilirim. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi girişimin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi girişimlerle ilgili olarak parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Bu koşullarla söz konusu genetik araştırmaya kendi rızamla, hiç bir baskı ve zorlama olmaksızın, gönüllülük içerisinde katılmayı kabul ediyorum.

İmzalı bu form kâğıdının bir kopyası bana verilecektir.

EK- 2. (Devam) Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kurumsal Araştırma Değerlendirme Komisyonu tarafından onaylanmış bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

**Katılımcı**

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Tarih:

**Görüşme tanığı**

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Tarih:



EK- 2. (Devam) Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kurumsal Araştırma Değerlendirme Komisyonu tarafından onaylanmış bilgilendirilmiş gönüllü olur formu

**Katılımcı ile görüşen hekim**

Adı soyadı, unvanı:

Adres:

Tel:

İmza:

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : RAMAZANOĞLU, Nagehan  
 Uyuğu : T.C.  
 Doğum tarihi ve yeri : 19.01.1988 Fatsa  
 Medeni hali : Bekar  
 Telefon : 0 (312) 468 53 00 / 4994  
 Faks : -  
 e-mail : nagehan.nr@gmail.com

### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Lisans	Gazi Üniversitesi / Biyoloji Bölümü	2009
Lise	Trabzon Yomra Fen Lisesi	2005

### İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2010 - 2012	TÜBİTAK	Uzman Yardımcısı

### Yabancı Dil

İngilizce

### Yayınlar

1. Yetkin, İ., Bayramcı, S., Ramazanoğlu, N., Kalkan, Ç., Açıık, L., "Türk Toplumunda Tip 2 Diyabetli Hastalarda CAPN 10 Geninde SNP19 Gen Mutasyonu", **46. Ulusal Diyabet Kongresi**, Antalya (2010).